

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

11 N° de publication :

2 948 571

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

21 N° d'enregistrement national :

09 55427

51 Int Cl⁸ : **A 61 K 47/48** (2006.01), A 61 K 47/22, 38/02, 31/71,
C 07 K 2/00, C 07 H 21/02, A 61 P 25/28, 35/00, 25/00

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 31.07.09.

30 Priorité :

43 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 04.02.11 Bulletin 11/05.

56 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

60 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

71 Demandeur(s) : CENTRE NATIONAL DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) — FR, UNI-
VERSITÉ DE MONTPELLIER I Etablissement public —
FR et INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA
RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) — FR.

72 Inventeur(s) : AMBLARD MURIEL, MARTINEZ
JEAN, VEZENKOV LUBOMIR, HERNANDEZ JEAN-
FRANCOIS, GARCIA MARCEL et MAYNADIER
MARIE.

73 Titulaire(s) : CENTRE NATIONAL DE LA RECHER-
CHE SCIENTIFIQUE (CNRS), UNIVERSITÉ DE MONT-
PELLIER I Etablissement public, INSTITUT NATIONAL
DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE
(INSERM).

74 Mandataire(s) : CABINET REGIMBEAU.

54 UTILISATION D'OLIGOMERES MIMES CONTRAINTS DE DIPEPTIDES ET TRIPEPTIDES EN TANT
QU'AGENTS DE VECTORISATION.

57 La présente invention concerne l'utilisation d'oligomères de motifs contraints de dipeptides ou de tripeptides en tant qu'agents de vectorisation de principes actifs.

FR 2 948 571 - A1



La présente invention concerne une nouvelle classe de composés capables de
5 pénétrer dans les cellules biologiques et d'y véhiculer des molécules d'intérêts,
tels que des médicaments ou des sondes biologiques.

Plus particulièrement, l'invention se rapporte à l'utilisation d'oligomères de
motifs contraints de dipeptides et tripeptides en tant qu'agents de vectorisation.

10

Le problème du transport de substances actives au travers de la membrane plasmique
et de leur accès aux divers compartiments intracellulaires est actuellement un
problème majeur dans un grand nombre de thérapies (anticancéreuses, antivirale par
exemple).

15 En effet, et même si la lipophilicité est un facteur de capture par la membrane, la
molécule n'est pas garantie de traverser ladite membrane pour accéder au cytoplasme.
Parmi les moyens actuellement utilisés pour introduire des substances dans les
cellules, les peptides de translocation dénommés CPP pour « Cell-Penetrating-
Peptides » (Advanced Drug Delivery Reviews, Volume 60, Numéros 4-5, Pages
20 447-614 (1 Mars 2008), Membrane Permeable Peptide Vectors: Chemistry and
Functional Design for the Therapeutic Applications, Edité par S. Futaki) sont les
vecteurs les plus utilisés. Depuis une dizaine d'années, ces vecteurs font l'objet de
nombreux travaux pour l'intérêt qu'ils présentent dans la vectorisation d'anti-
tumoraux, oligonucléotides antisens, peptidiques antisens (PNA), petits ARN
25 interférents (ARNsi), peptides ou protéines.

Toutefois, la stabilité de ces composés de nature peptidique vis-à-vis des protéases,
implique un risque de destruction rapide du conjugué vecteur/molécule active *in vivo*.

Enfin, le caractère hydrophile des molécules de type poly-cationique, généralement
utilisées dans ce domaine, ne permet pas la translocation de médicaments au travers
30 de certaines barrières physiologiques comme la barrière hémato-encéphalique.

Toutes ces raisons rendent essentiel le développement de nouveaux vecteurs tant pour la recherche fondamentale (compréhension des mécanismes d'internalisation) que pour des utilisations thérapeutiques ou diagnostiques.

Ainsi, et bien que le domaine de vectorisation de molécules d'intérêt met déjà à disposition un certain nombre de composés, certains points doivent être résolus, parmi lesquels la biodisponibilité, la toxicité, un adressage spécifique des compartiments intracellulaires et la faisabilité au niveau industriel.

L'objet de la présente invention vise à résoudre certains de ces problèmes. Il implique l'utilisation d'un oligomère précédemment décrit (WO 01/51506) pour vectoriser des molécules d'intérêt. Ces oligomères sont connus pour être des mimes de polypeptides ou de protéines. Lesdits mimes de polypeptides ou de protéines sont plus stables que leurs analogues naturels dont ils diffèrent par la structure, notamment par la taille. En outre, un oligomère constitué seulement de quelques monomères, lié à une molécule d'intérêt, est capable de traverser une membrane plasmique.

Résumé de l'invention :

La présente invention concerne l'utilisation d'un oligomère de formule (I') :



pour préparer un principe actif (PA) vectorisé de formule (I) en liant (PA) à X₁ et/ou X₂ afin de faciliter l'entrée dudit principe actif dans des cellules biologiques, dans laquelle les unités récurrentes $\text{-(NR}_1\text{-R-A-R}'\text{-CO)-}$ et les termes X₁, R₁, R, A, R', X₂ et n sont tels que définis ci-dessous.

Les unités récurrentes $\text{-(NR}_1\text{-R-A-R}'\text{-CO)-}$, indépendamment identiques ou différentes les unes des autres, représentent des mimes contraints de dipeptides ou tripeptides, avantageusement inducteurs de coude béta.

Le nombre d'unités récurrentes $\text{-(NR}_1\text{-R-A-R}'\text{-CO)-}$ de l'oligomère est défini par le nombre n; n est un nombre entier compris entre 2 et 40.

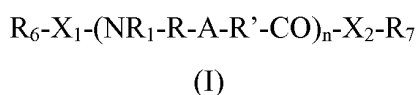
Dans l'unité récurrente $-(NR_1-R-A-R'-CO)-$ de la formule (I'), les termes R et R', l'un indépendamment de l'autre, représentent une liaison ou un groupe C₁-C₆ alkyle éventuellement substitué par un groupe aryle ou par une chaîne latérale d'un acide aminé.

- 5 Dans l'unité récurrente $-(NR_1-R-A-R'-CO)-$ de la formule (I'), le terme A représente un cycle hydrocarboné ou un hétérocycle, monocyclique ou polycyclique, saturé ou insaturé, comprenant un ou des cycles de 3 à 10 atomes chacun et un nombre total de cycles ne dépassant pas 3, éventuellement substitué
- 10 oxo (=O), nitrile, $-C(=NH)NH_2$, $-NH-C(=NH)NH_2$, $-(CH_2)_uOH$, $-CO_2H$, $-CONH_2$, F, CF_3 , $-(CH_2)_vNH_2$, et/ou $-CONH(CH_2)_wNH_2$, u, v et w étant des nombres entiers compris entre 0 et 10.

- Dans l'unité récurrente $-(NR_1-R-A-R'-CO)-$ de la formule (I'), le terme R₁ représente un atome d'hydrogène ou bien R₁ forme un cycle avec l'atome d'azote
- 15 auquel il est lié, ledit cycle étant soit condensé avec le groupe A, soit lié au groupe A par un-alkyle en C₁-C₆, soit lié à A par une jonction spiro.

Dans la formule (I'), les termes X₁ et X₂, indépendamment l'un de l'autre, représentent un groupe espaceur ou une liaison.

- Un autre objet de la présente invention concerne l'oligomère représenté par la
- 20 formule générale (I):



- dans laquelle les unités récurrentes $-(NR_1-R-A-R'-CO)-$, et les termes n, R, R', A, R₁, X₁ et X₂ sont tels que définis pour la formule (I') et, l'un au moins de R₆ et R₇,
- 25 est un principe actif (PA). Dans le cas où R₆ est un principe actif, R₇ est choisi parmi les groupes hydroxy, C₁-C₆ alcoxy, aryl-(C₁-C₆ alcoxy)-, ou NH₂ ou R₇ représente un principe actif identique ou différent de R₆. Dans le cas où R₇ est un principe actif, R₆ est choisi parmi un atome d'hydrogène, un groupe C₁-C₆ alkyle, un groupe aryl-(C₁-C₆ alkyl)-, ou R₆ est un principe actif identique ou différent de
- 30 R₇.

Un autre objet de la présente invention concerne un procédé de synthèse pour obtenir l'oligomère de formule (I). Les techniques utilisées sont semblables à celles utilisées en synthèse peptidique.

5 Un autre objet de la présente invention concerne l'oligomère de formule (I) utilisé en tant que médicament.

Enfin la présente invention a également pour objet l'utilisation de l'oligomère de formule (I) pour faciliter l'entrée d'un principe actif (PA) dans des cellules biologiques.

10

Définitions

Les « mimes contraints » sont des fragments moléculaires permettant d'induire artificiellement des structures secondaires, telles que des hélices α , feuillet β ou coudes β , retrouvés dans des macromolécules telles que des protéines.

15 Un « dipeptide » est un fragment polymère de deux acides aminés reliés entre eux par une liaison amide, encore appelée liaison peptidique, issue d'une condensation entre l'amine d'un premier acide aminé et l'acide carboxylique d'un deuxième acide aminé. Un « tripeptide » est constitué par 3 acides aminés reliés entre eux par deux liaisons peptidiques.

20 Par groupement « C₁-C₆ alkyle », on entend une chaîne hydrocarbonée saturée, linéaire ou ramifiée, comportant de 1 à 6 atomes de carbone, comme par exemple un groupement méthyle, éthyle, isopropyle, *tertio*-butyle, pentyle, etc.

25 Par groupement « aryle », on entend un groupement aromatique, comportant de préférence de 5 à 10 atomes de carbone, comprenant un ou plusieurs cycles et comprenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatome(s) en particulier un oxygène, un azote ou un soufre, comme par exemple un groupement phényle, furane, indole, pyridine, naphtalène, etc.

30 Le terme « chaîne latérale d'un acide aminé » représente le fragment porté par le carbone α d'un acide aminé. Par exemple, les chaînes latérales d'acides aminés naturels tels que la glycine, la valine, l'alanine et l'acide aspartique correspondent à l'atome d'hydrogène, aux groupes isopropyle, méthyle et CH₂COOH respectivement.

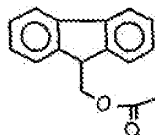
Le terme acide aminé naturel représente entre autres les acides aminés suivants : la glycine (Gly), l'alanine (Ala), la valine (Val), la leucine (Leu), l'isoleucine (Ile), la sérine (Ser), la thréonine (Thr), la phénylalanine (Phe), la tyrosine (Tyr), le tryptophane (Trp), la cystéine (Cys), la méthionine (Met), la proline (Pro),
5 l'hydroxyproline, l'acide aspartique (Asp), l'asparagine (Asn), la glutamine (Gln), l'acide glutamique (Glu), l'histidine (His), l'arginine (Arg), l'ornithine, et la lysine (Lys).

Les chaînes latérales d'autres acides aminés peuvent être inclus dans la définition, tels que celles des acides aminés suivants: acide 4-amino tétrahydropyran-4-
10 carboxylique, allylglycine, acide diamino butyrique, acide diamino propionique, aminosérine, acide aminobutyrique, amino butylglycine, phénylglycine, 4-chlorophénylalanine, 4-nitro-phénylalanine, citrulline, cyclohexylalanine, thiénylalanine, et de leurs semblables.

Les chaînes latérales des acides aminés peuvent être protégées par des groupements
15 protecteurs (P) et plus particulièrement N-protecteurs, O-protecteurs ou S-protecteurs lorsque ces chaînes contiennent les hétéroatomes correspondants.

Les groupements protecteurs (P) sont des groupements connus de l'homme du métier. Ces groupements protecteurs et leur utilisation sont décrits dans des ouvrages tels que par exemple Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis",
20 Wiley, New York, 2007 4^{ème} édition ; Harrison et al. "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vol. 1 à 8 (J. Wiley & sons, 1971 to 1996); Paul Lloyd-Williams, Fernando Albericio, Ernest Giralt, "Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins", CRC Press, 1997 ou Houben-Weyl, "Methods of Organic Chemistry, Synthesis of Peptides and Peptidomimetics", Vol E 22a, Vol
25 E 22b, Vol E 22c, Vol E 22d., M. Goodman Ed., Georg Thieme Verlag, 2002. Selon que ces groupements protecteurs sont portés par un atome d'azote, ils seront désignés en tant que groupements N-protecteurs. Il en est de même pour les groupements S-protecteurs, O-protecteurs, etc. Par exemple, un hydroxy peut être protégé par un groupement trityl, ou un acide carboxylique peut être protégé sous
30 forme d'un ester tert-butylique. Si on fait une synthèse sur support solide, c'est la résine qui sert de groupement protecteur à la fonction carboxylique C-terminale.

La protection du groupe amino de l'acide aminé peut être effectuée par exemple par un groupe tert-butyloxycarbonyle (désigné ci-après par Boc-) ou un groupe -9-fluorénylméthoxyloxycarbonyle (désigné ci-après par Fmoc) représenté par la formule :



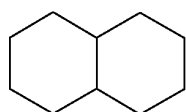
- 5 La protection est effectuée selon les procédés connus de l'art antérieur. Par exemple, la protection par le groupe Boc- peut être obtenue en faisant réagir l'acide aminé avec le di-tert-butylpyrocarbonate (Boc_2O).

Le terme « cycle hydrocarboné monocyclique ou polycyclique saturé » représente
10 indifféremment dans la présente invention des groupes hydrocarbonés saturés comprenant un ou plusieurs cycles, avantageusement 1, 2 ou 3 cycles, chacun des cycles comprenant de 3 à 10 atomes de carbones inscrit dans ledit cycle.

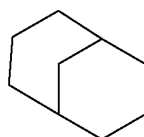
Le terme « cycle hydrocarboné monocyclique ou polycyclique insaturé » représente
15 indifféremment dans la présente invention des groupes hydrocarbonés insaturés comprenant un ou plusieurs cycles, avantageusement 1, 2 ou 3 cycles, avec au moins un des cycles comprenant au moins une insaturation, chacun des cycles comprenant de 3 à 10 atomes de carbones inscrits dans ledit cycle. En outre, le terme « cycle hydrocarboné monocyclique ou polycyclique insaturé » comprend les groupements cycliques aromatiques, c'est-à-dire les aryles, définis plus haut.

20 Dans le cas où le groupe polycyclique comprend 2 cycles, lesdits cycles peuvent être fusionnés, pontés, liés entre eux par une jonction spiro, ou l'un des atomes de carbone d'un des cycles forme une liaison covalente avec un atome de carbone de l'autre cycle.

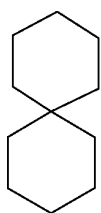
Par exemple, un groupe hydrocarboné bicyclique dans lequel chaque cycle est un
25 cycle constitué de 6 atomes de carbone peut être condensé des façons suivantes:



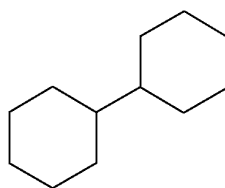
fusionnés,



pontés,



avec une jonction spiro,



avec une liaison C-C.

Dans le cas où le groupe polycyclique comprend plus de 2 cycles, l'homme du métier comprendra qu'il peut exister une combinaison de ces configurations de cycles.

- 5 Il doit être compris aussi qu'un ou plusieurs de ces cycles peuvent être hétérocycliques, ce qui veut dire que les cycles incorporent un ou plusieurs hétéroatomes, choisis avantageusement parmi les atomes d'azote, d'oxygène, de soufre.

- Des exemples de cycles hydrocarbonés ou hétérocycliques, mono ou polycycliques, saturés ou insaturés, comprennent les groupes cyclopentyle, le cyclohexyle, le
- 10 cycloheptyle, adamantyle, pipéridinyle ou norbornyle.

- Un « groupe espaceur » selon l'invention est un fragment moléculaire permettant de relier l'oligomère $-NR_1-R-A-R'-CO-$ à un principe actif (PA). Avantageusement
- 15 le groupe espaceur permet de diminuer la gêne stérique entre l'oligomère et le principe actif. Plus avantageusement, le groupe espaceur permet de relarguer le principe actif dans le ou les organites cibles de la cellule biologique – par exemple dans le lysosome, la mitochondrie ou l'appareil de Golgi. Le groupe espaceur est constitué d'au moins deux atomes pouvant être identiques ou différents.
- 20 Avantageusement, le groupe espaceur est un polyéthylène glycol, un acide aminé dont les fonctions acide carboxylique et amine sont séparées par une chaîne hydrocarbonée comprise entre 2 et 10 atomes de carbones, un substrat de protéase, un pont disulfure. Ces deux derniers espaceurs permettent de relarguer le principe actif, le premier par clivage par une protéase cible et le second par réduction
- 25 (système glutathion). D'autres techniques de relarguage de principes actifs, connues de l'homme du métier, peuvent être appliquées à la présente invention.

Par groupement « C₁-C₆ alcoxy », on entend, au sens de la présente invention, un groupe C₁-C₆ alkyle, tel que défini ci-dessus, lié à la molécule par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène. A titre d'exemple, on peut citer les groupes méthoxy, éthoxy, propoxy, isopropoxy, butoxy ou encore tert-butoxy.

5 « tBu » désigne tert-butyle.

Par groupement « aryl-(C₁-C₆ alcoxy) », on entend, au sens de la présente invention, un groupe aryle, tel que défini ci-dessus, lié à la molécule par l'intermédiaire d'un groupement C₁-C₆ alcoxy. A titre d'exemple, on peut citer les groupes benzyloxy, phényléthoxy, ou encore phénylpropoxy.

10

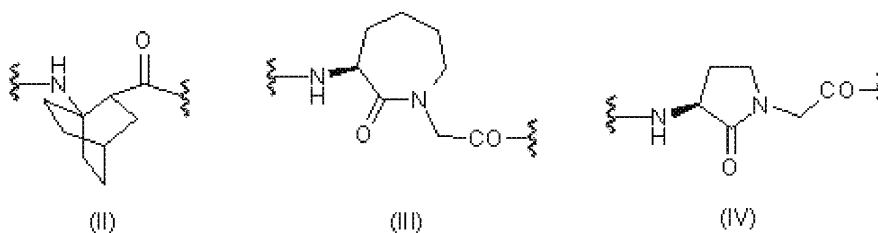
Description détaillée

Les unités récurrentes -NR₁-R-A-R'-CO- dans les formules (I) et (I') peuvent comprendre un ou plusieurs centres asymétriques, qui peuvent être de configuration R ou de configuration S.

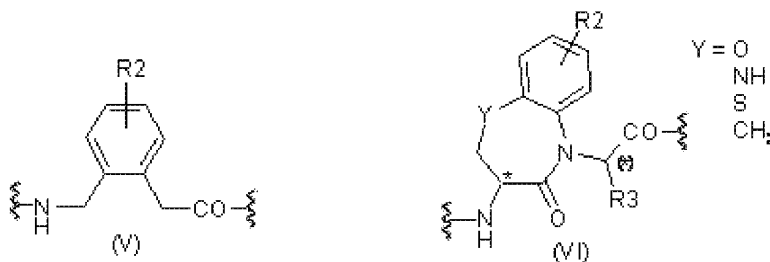
15 Dans ces unités récurrentes -NR₁-R-A-R'-CO-, le terme « A » représente un cycle hydrocarboné aromatique ou non ou un groupe hétérocyclique aromatique ou non, monocyclique ou polycyclique condensé.

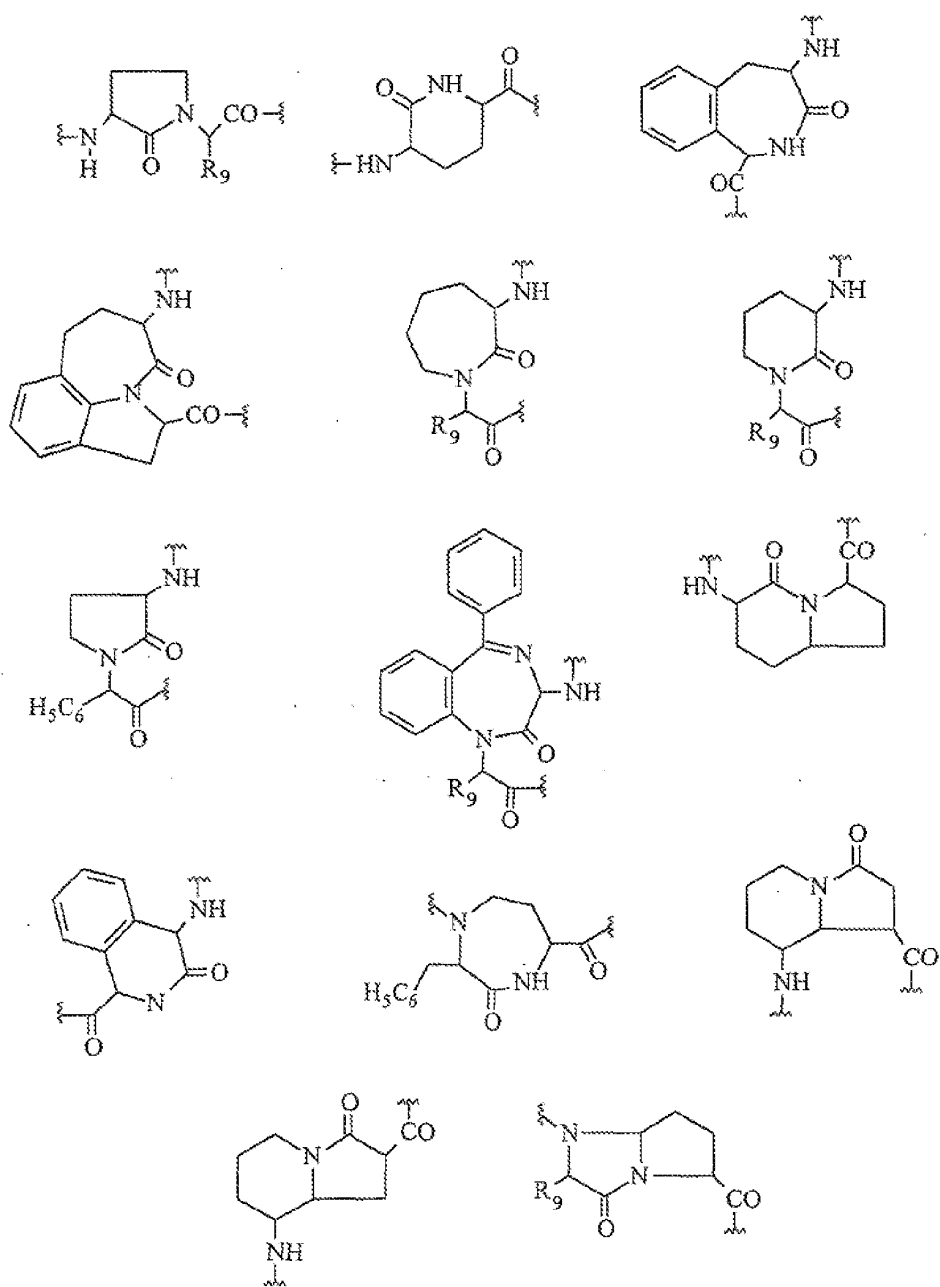
Comme exemples de groupements -NR₁-R-A-R'-CO- qui présentent des propriétés de mimes contraints de dipeptides ou de tripeptides et qui peuvent être inducteurs de coude β, on peut citer les groupes suivants :

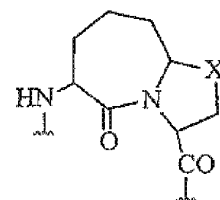
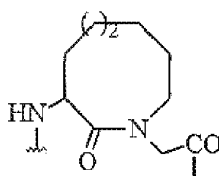
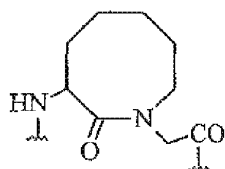
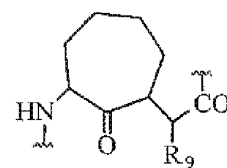
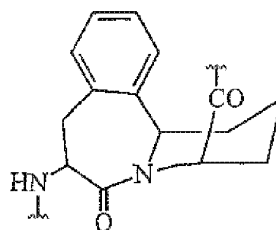
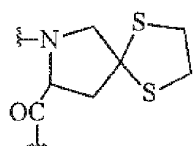
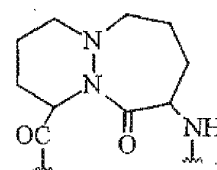
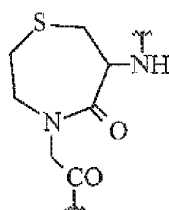
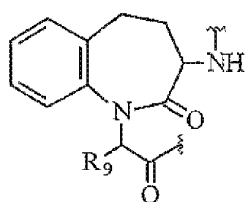
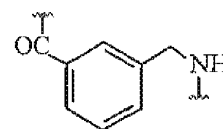
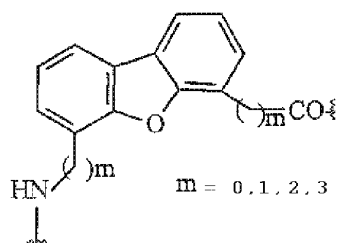
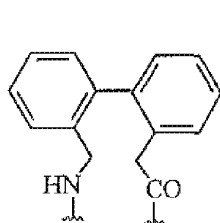
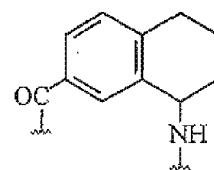
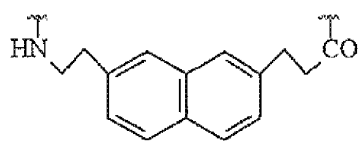
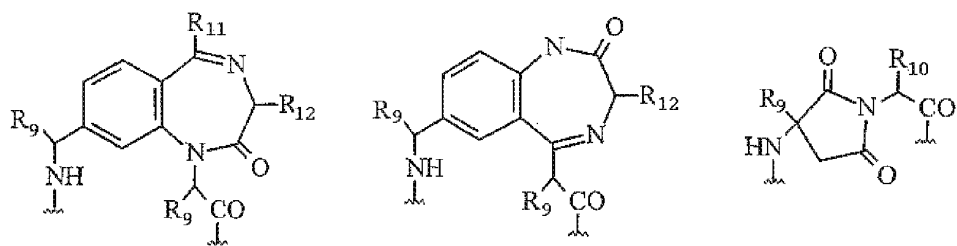
25



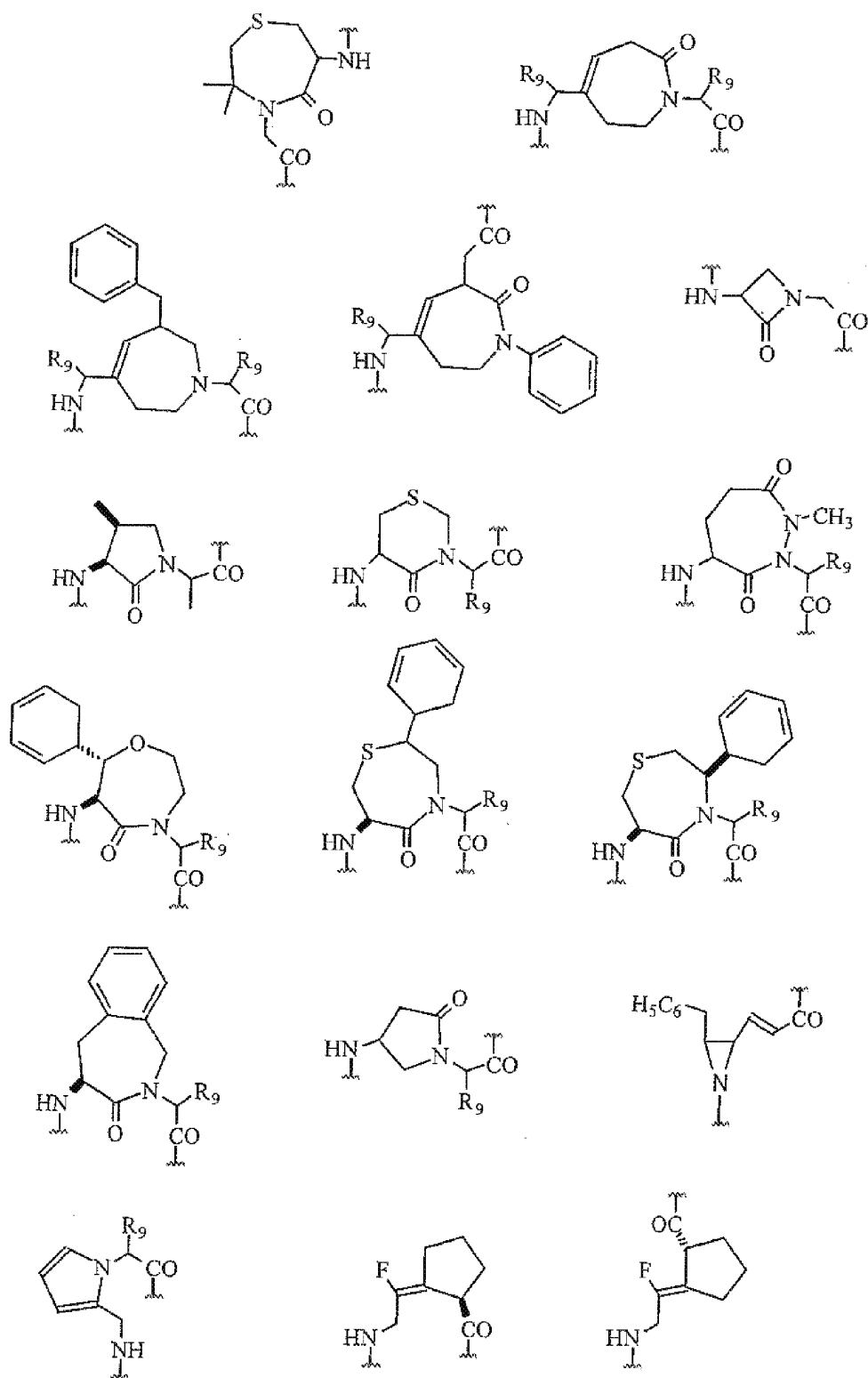
30

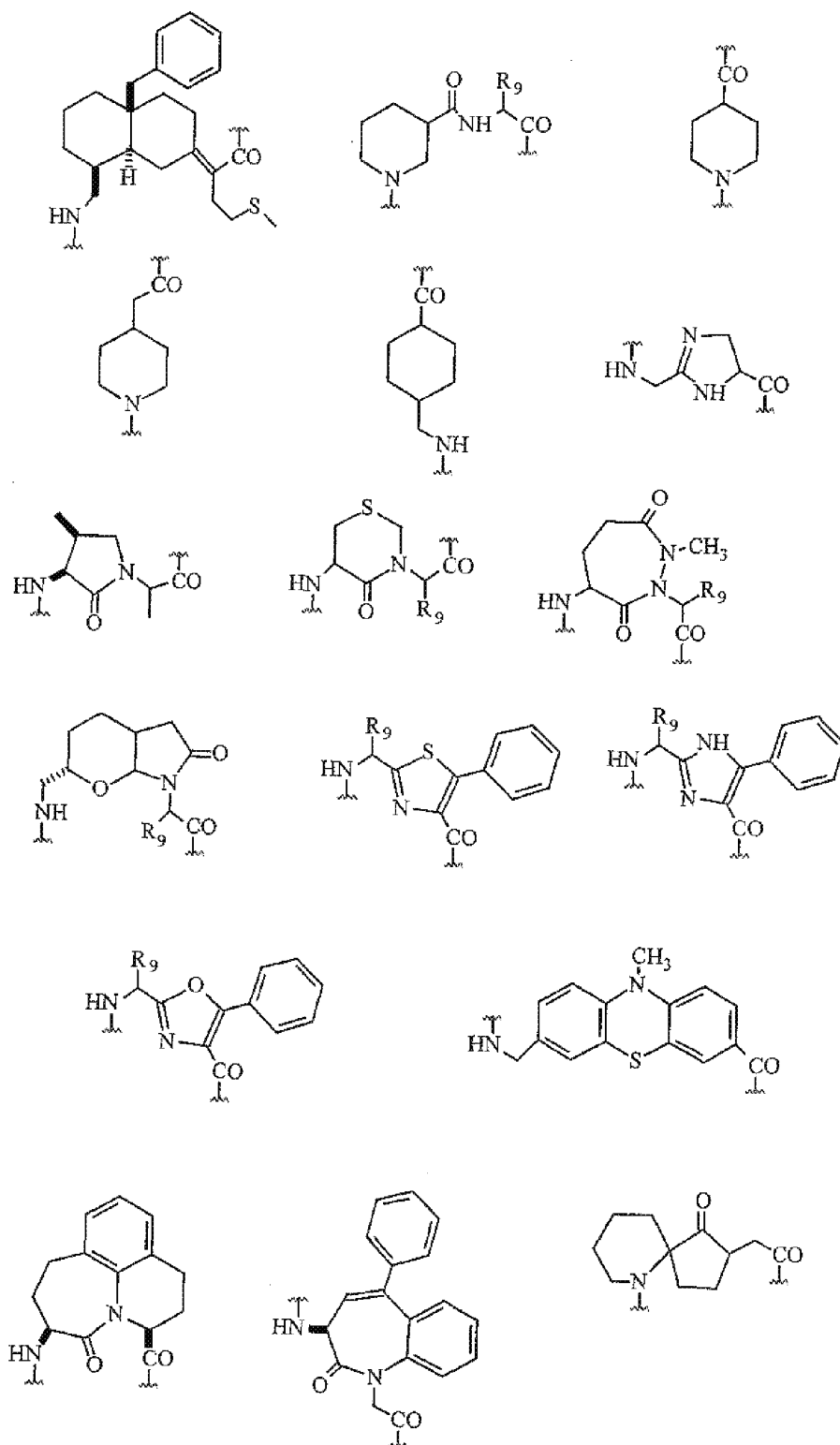


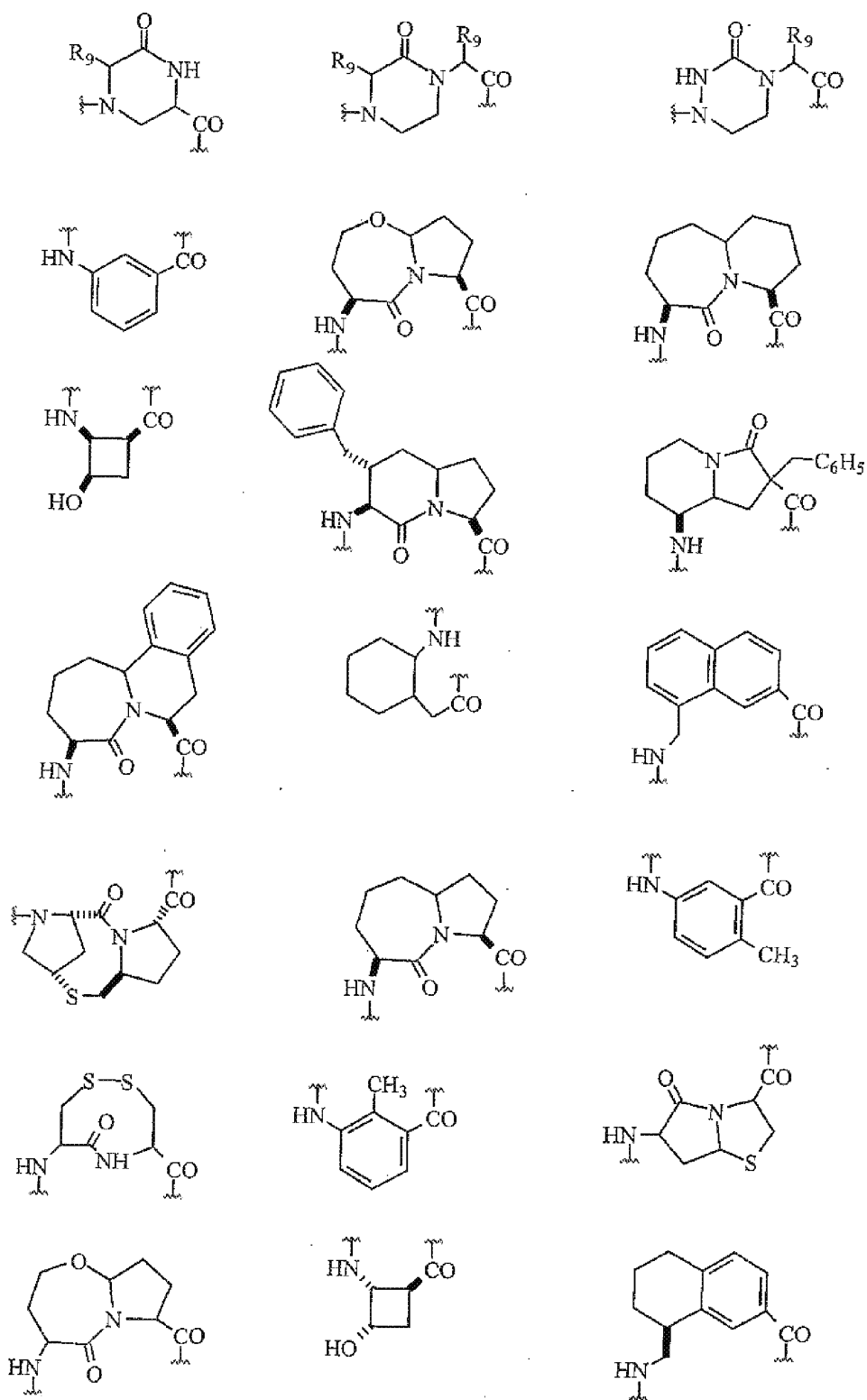


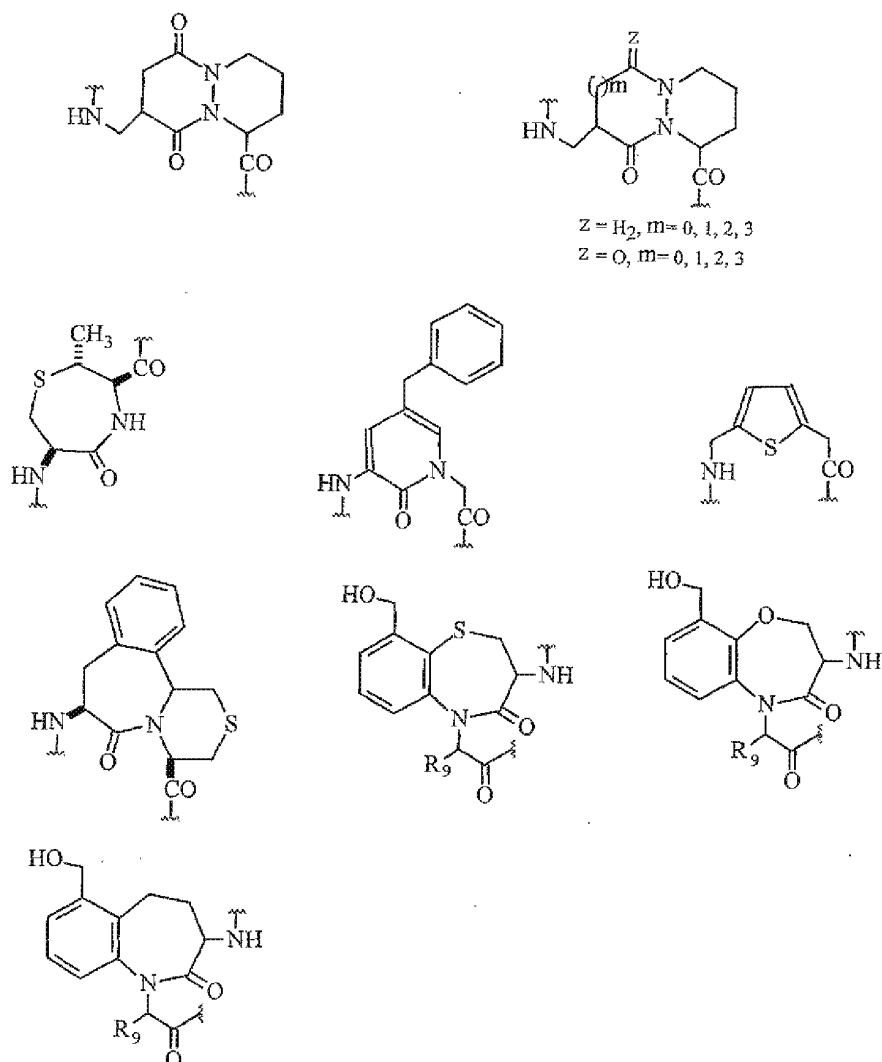


$X = CH_2, S$









dans lesquels :

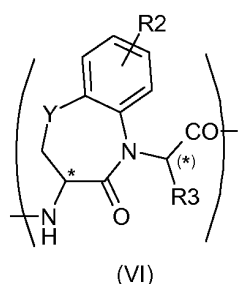
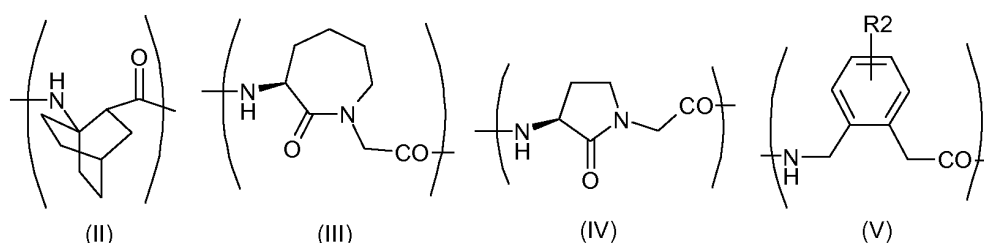
5 -R2 représente H, C₁-C₆ alkyle, nitrile, -NH-C(=NH)NH₂, -C(=NH)NH₂,
 -(CH₂)_uOH, -CO₂H, -CONH₂, F, CF₃, -(CH₂)_vNH₂, et/ou -
 CONH(CH₂)_wNH₂, u, v et w étant des nombres entiers compris entre 0 et
 10.

10 - R3, et les cas échéants R₉ et R₁₀, sont choisis indépendamment les
 uns des autres parmi les groupes constituant les chaînes latérales des
 acides aminés, par exemple H, CH₃-, (CH₃)₂CH-, CH₃-(CH₂)₃- ou C₆H₅-CH₂;
 -R₁₁ représente H ou un phényle ;
 - R₁₂ représente H, CH₃-, C₂H₅- ou C₆H₅-CH₂-;

- m et les substituants X, Y et Z pour chaque composé qui les contient, sont définis de manière spécifique, et
- Me représente un groupe méthyle.

- 5 Dans les composés ci-dessus comprenant des centres asymétriques, lesdits centres asymétriques peuvent être de configuration R ou S.

Avantageusement, les unités récurrentes $-(NR_1-R-A-R'-CO)-$ des oligomères (I) et (I') de la présente invention sont choisies parmi les groupes suivants :



R2= H
F
(C₁₋₆)-alkyle
OH
CN
C(=NH)NH₂
NH-C(=NH)NH₂
CF₃
CONH₂
(CH₂)_u-OH
(CH₂)_v-NH₂
CO₂H
CO-NH-(CH₂)_w-NH₂

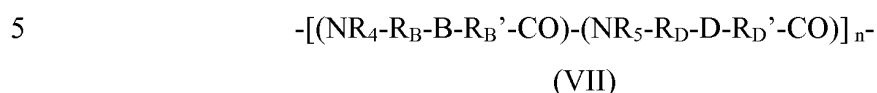
R3 = chaîne latérale d'acides aminés
Y = O
NH
S
CH₂

10

Dans les formules (I) ou (I'), si n est trop grand, alors il peut subvenir des problèmes de synthèse et/ou de solubilité. Si n est trop petit, l'oligomère ne permet pas le passage au travers d'une membrane biologique cellulaire.

- 15 Avantageusement, pour les formules (I) et (I'), n est compris entre 2 et 10 et encore plus avantageusement, n est compris entre 4 et 8

Avantageusement, les oligomères de formules (I) et (I') peuvent être des hétérooligomères, c'est-à-dire comprenant au moins deux types différents d'unités récurrentes. Avantageusement, l'oligomère (I) ou (I') de la présente invention est un hétérooligomère où $-(NR_1-R-A-R'-CO)_n-$ présente la formule (VII)



dans laquelle:

- les unités récurrentes $-(NR_4-R_B-B-R_B'-CO)-$ et $-(NR_5-R_D-D-R_D'-CO)-$, représentent des mimes contraints de dipeptides ou de tripeptides,

10 avantageusement inducteurs de coude bêta ;
- les unités récurrentes $-(NR_4-R_B-B-R_B'-CO)-$ et $-(NR_5-R_D-D-R_D'-CO)-$ sont différentes l'une de l'autre ;
- R_B , R_D , R_B' et R_D' , les uns indépendamment des autres, représentent une liaison ou un groupe C_1-C_6 alkyle éventuellement substitué par un groupe aryle

15 ou par une chaîne latérale d'un acide aminé;
- B représente un cycle hydrocarboné ou un hétérocycle, monocyclique ou polycyclique, saturé ou insaturé, comprenant un ou des cycles de 3 à 10 atomes chacun et un nombre total de cycles ne dépassant pas 3, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements choisis dans le groupe constitué de

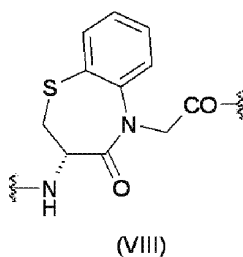
20 C_1-C_6 alkyle, oxo (=O), nitrile, $-C(=NH)NH_2$, $-NH-C(=NH)NH_2$, $-(CH_2)_uOH$, $-CO_2H$, $-CONH_2$, F, CF_3 , $-(CH_2)_vNH_2$, et/ou $-CONH(CH_2)_wNH_2$, u, v et w étant des nombres entiers compris entre 0 et 10.
- D représente un cycle hydrocarboné ou un hétérocycle, monocyclique ou polycyclique, saturé ou insaturé, comprenant un ou des cycles de 3 à 10 atomes

25 chacun et un nombre total de cycles ne dépassant pas 3, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements choisis dans le groupe constitué de C_1-C_6 alkyle, oxo (=O), nitrile, $-C(=NH)NH_2$, $-NH-C(=NH)NH_2$, $-(CH_2)_uOH$, $-CO_2H$, $-CONH_2$, F, CF_3 , $-(CH_2)_vNH_2$, et/ou $-CONH(CH_2)_wNH_2$, u, v et w étant des nombres entiers compris entre 0 et 10 ;

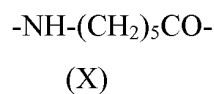
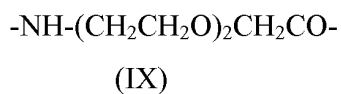
- R₄ représente un atome d'hydrogène ou bien R₄ forme un cycle avec l'atome d'azote auquel il est lié, ledit cycle étant soit condensé avec le groupe B, soit lié au groupe B par une liaison alkyle en C₁-C₆ soit lié à B par une jonction spiro ;
- R₅ indépendamment de R₄, représente un atome d'hydrogène ou bien R₅ forme un cycle avec l'atome d'azote auquel il est lié, ledit cycle étant soit condensé avec le groupe D, soit lié au groupe D par une liaison alkyle en C₁-C₆, soit lié à D par une jonction spiro.

Avantageusement, les deux unités $-(NR_4-R_B-B-R_B'-CO)-$ et $-(NR_5-R_D-D-R_D'-CO)-$ sont des unités de formule (VI) différentes l'une de l'autre.

Avantageusement, l'un desdits dérivés de formule (VI) est un composé de formule (VIII) :



- Avantageusement, dans les oligomères (I) et (I'), les groupes espaceurs X₁ et X₂, indépendamment l'un de l'autre sont une liaison ou choisis parmi les groupes suivants :



- Le principe actif (PA) vectorisé est une molécule connue pour son action biologique, en particulier utilisée en thérapie médicale humaine. Le principe actif peut aussi être utilisé pour le diagnostic de maladies. Il peut être d'origine naturelle ou synthétique. D'une façon générale, l'objet de la présente invention permet de faciliter le passage membranaire cellulaire d'un principe actif nécessitant un tel transport. Ladite membrane cellulaire peut être au niveau des tissus ciblés par le principe actif quelque soit le mode d'administration, et/ou au niveau du tractus digestif (dans le cas d'une administration par voie orale), et/ou au niveau d'un

pathogène (bactérie, parasite, champignon). Avantageusement, le principe actif est choisi dans le groupe des médicaments traitant par exemple les maladies lysosomales, par exemple la maladie de Gaucher, le cancer, les maladies associées à la prolifération cellulaire et la différenciation, les maladies associées au
5 métabolisme, les maladies d'origine génétique ou virale, les maladies infectieuses ou allergiques, les maladies hématopoïétiques, les maladies immunitaires, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurologiques, par exemple la maladie d'Alzheimer, les maladies hématologiques.

Par exemple le principe actif peut être: un antiacnéique, un antiallergique, un
10 anxiolytique, un antiasthmatique, un anticancéreux, un hypolipémiant, un contraceptif hormonal, un antidépresseur, un antidiabétique, un antalgique, un antiasthénique, un antihypertenseur, un antifongique, un antibiotique, un somnifère, une hormone, un antimigraineux, un médicament du surpoids, un antiparkinsonien, un neuroleptique, un anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien, un inducteur
15 d'ovulation, un fluidifiant bronchique, un antitussif, un inducteur d'érection, un antiulcéreux.

De manière avantageuse, le principe actif est choisi dans le groupe des médicaments traitant les maladies lysosomales, par exemple la maladie de Gaucher, de Fabry ou de Pompe; le groupe des médicaments traitant le cancer ou la maladie
20 d'Alzheimer.

Avantageusement, les principes actifs de l'oligomère de formule (I) sont choisis dans le groupe des médicaments, des SiRNA, des miRNA, ou des peptides et encore plus avantageusement, ils sont choisis dans le groupe des médicaments pour le traitement de maladies lysosomales, du cancer, ou de la maladie d'Alzheimer.

25 La présente invention a également pour objet un procédé de synthèse pour obtenir les oligomères de formules (I) et (I').

Les techniques utilisées sont semblables à celles utilisées en synthèse peptidique.

Une, plusieurs ou toutes les étapes peuvent être effectuées en phase liquide.

Une, plusieurs ou toutes les étapes peuvent être effectuée sur support solide.

Un oligomère (I) ou (I') est obtenu par polymérisation d'au moins un acide aminé mime contraint de dipeptide ou tripeptide, pouvant être un inducteur de coude β , et qui répond à la formule :

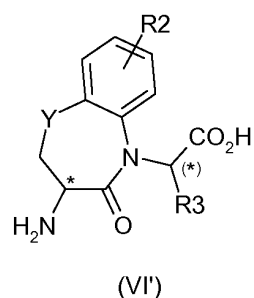
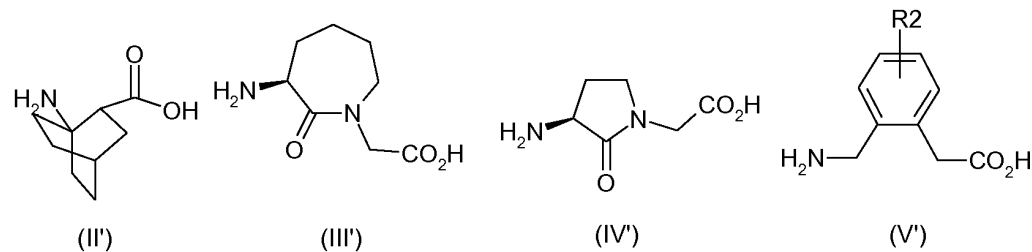


5

(XI)

dans laquelle les groupes R_1 , R, A et R' ont la même signification que dans l'oligomère (I) ou (I').

A titre d'exemples de composés, on peut citer les composés ci-dessous, convenablement protégés:

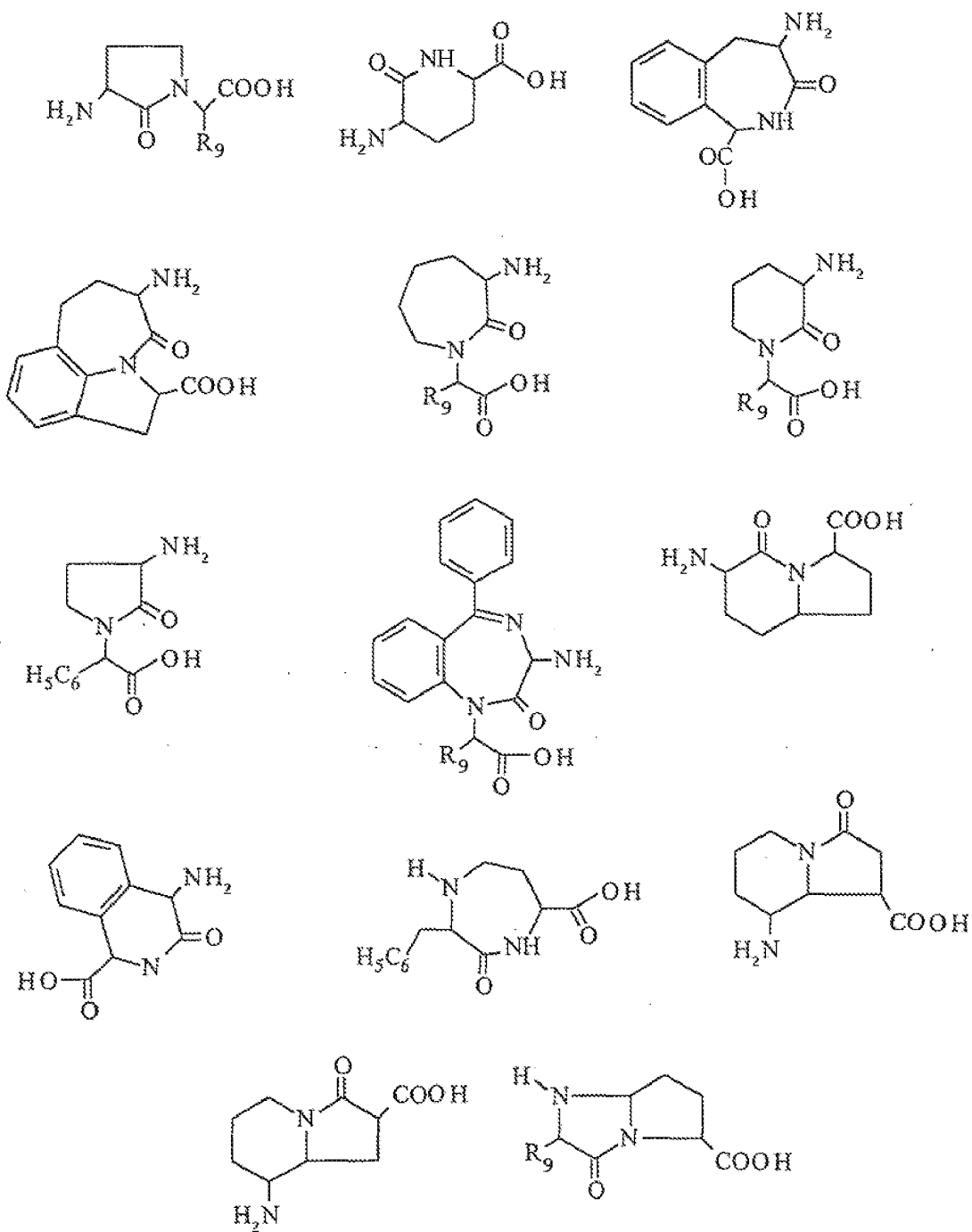


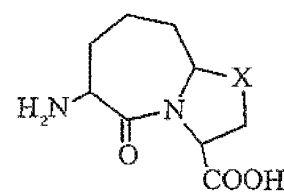
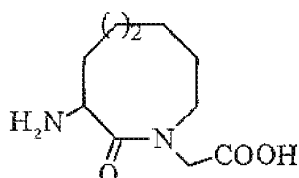
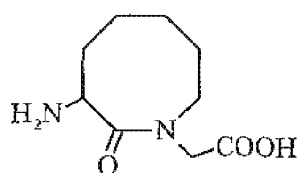
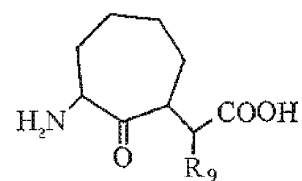
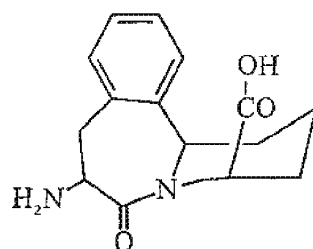
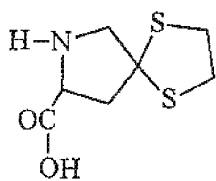
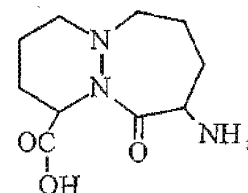
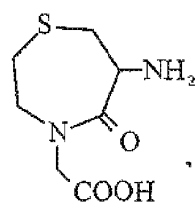
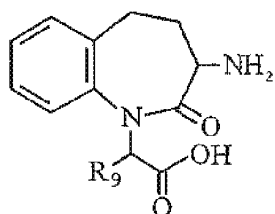
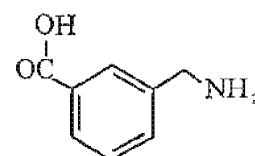
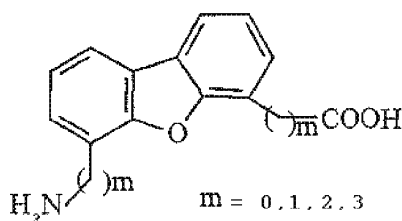
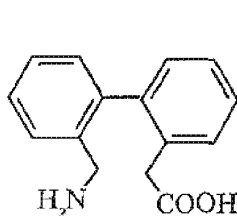
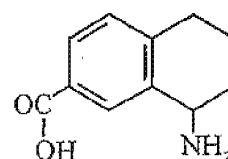
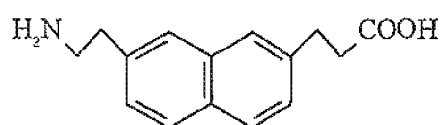
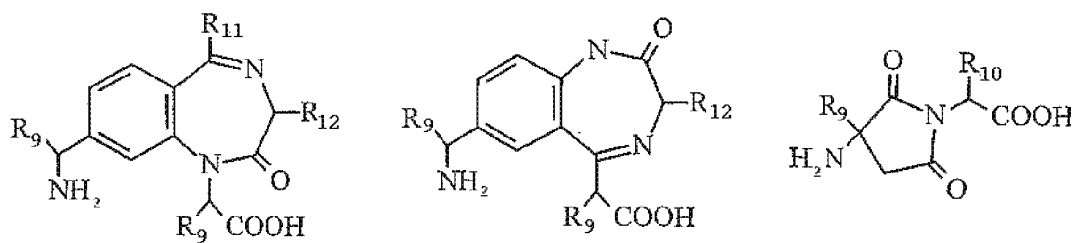
R2= H
 F
 (C₁₋₆)-alkyle
 OH
 CN
 C(=NH)NH₂
 NH-C(=NH)NH₂
 CF₃
 CONH₂
 (CH₂)_u-OH
 (CH₂)_v-NH₂
 CO₂H
 CO-NH-(CH₂)_w-NH₂

Y = O
 NH
 S
 CH₂

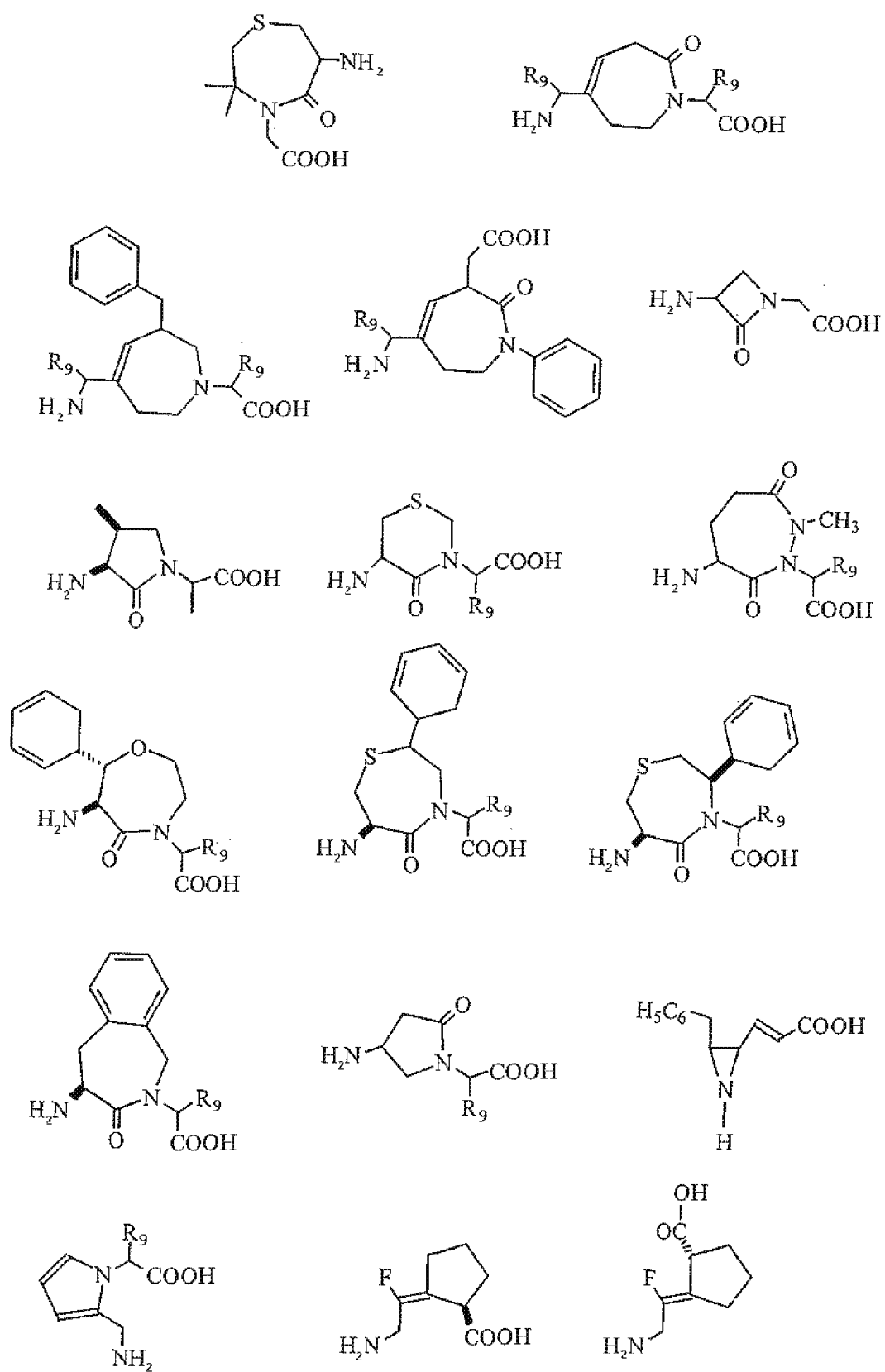
R3 = chaîne latérale d'acides aminés

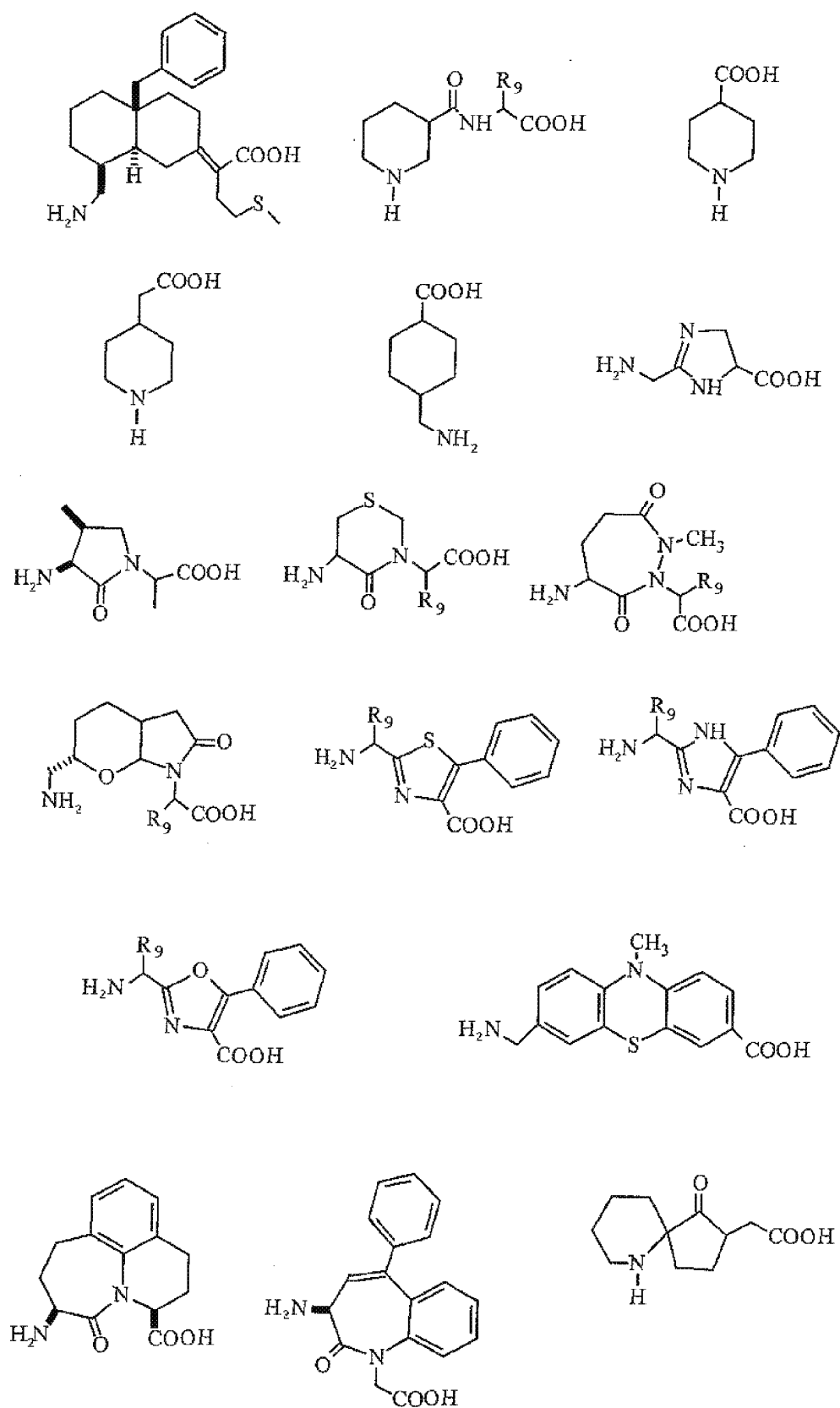
10

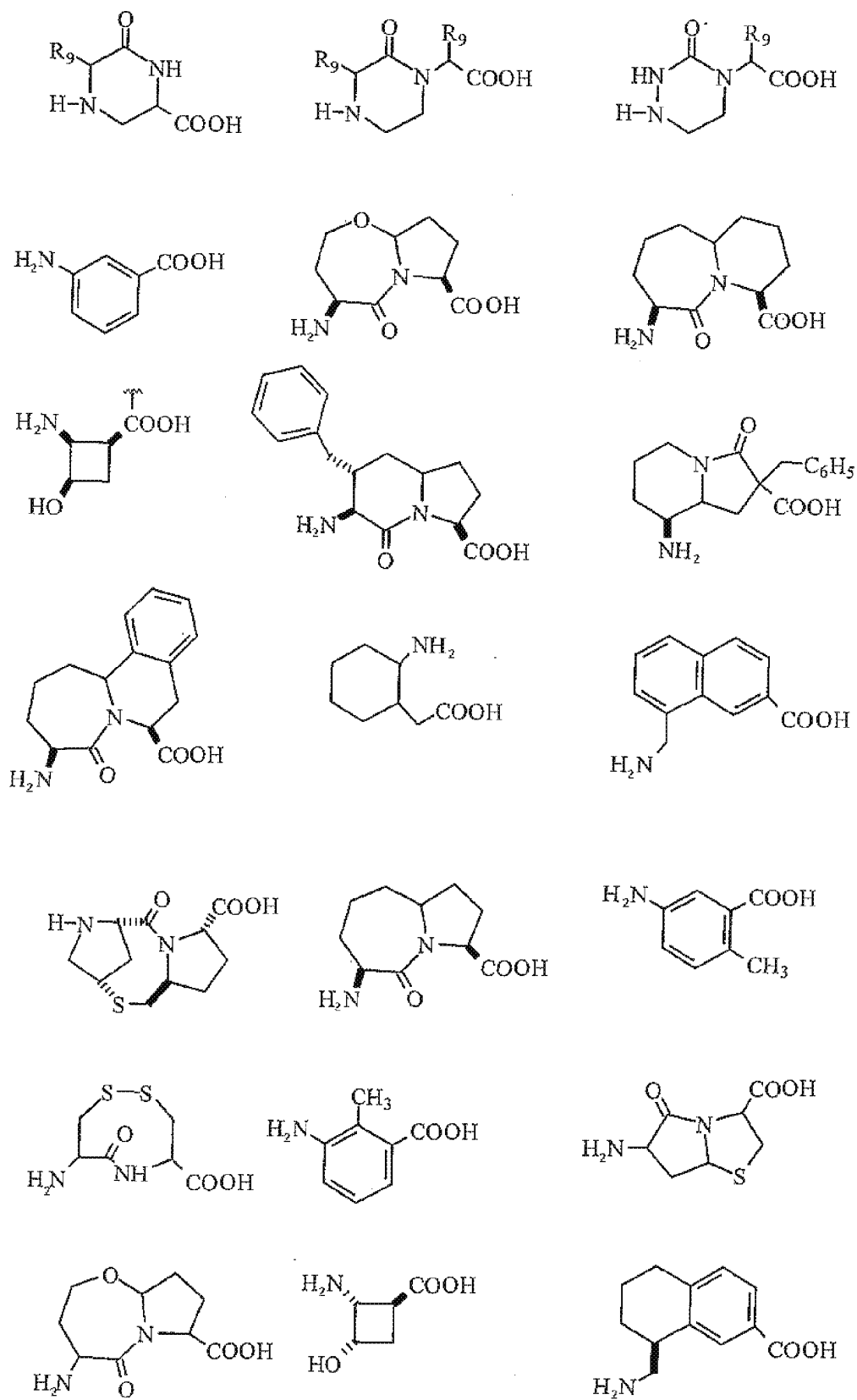


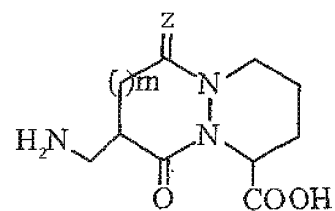
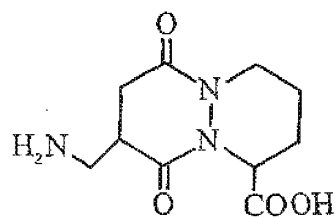


X = CH₂, S



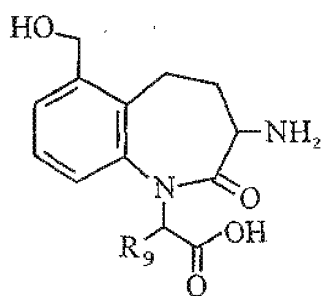
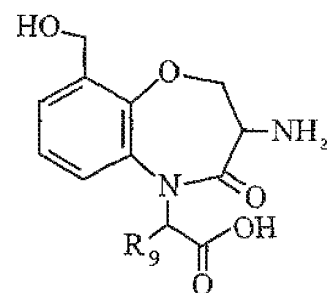
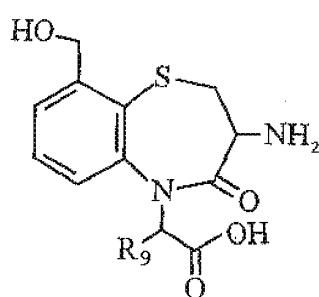
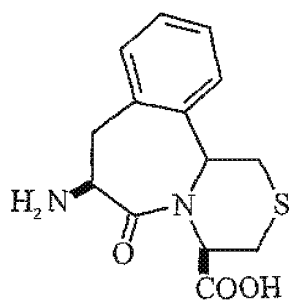
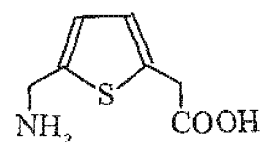
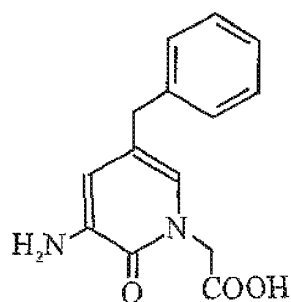
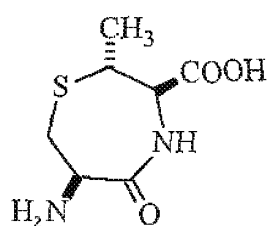






Z = H₂, m = 0, 1, 2, 3

Z = O, m = 0, 1, 2, 3



5 Dans les composés ci-dessus comprenant des centres asymétriques, lesdits centres asymétriques peuvent être de configuration R ou S.

Ces monomères peuvent être synthétisés par des procédés décrits dans l'art antérieur. Par exemple, Amblard, et al., J. Med. Chem. , 1999, 42, 4193-4201, décrivent la synthèse de la (3S) [amino]-5-(carbonylméthyl)-2,3-dihydro-1,5-benzothiazépin-4 (5H) -one et d'autres monomères.

5

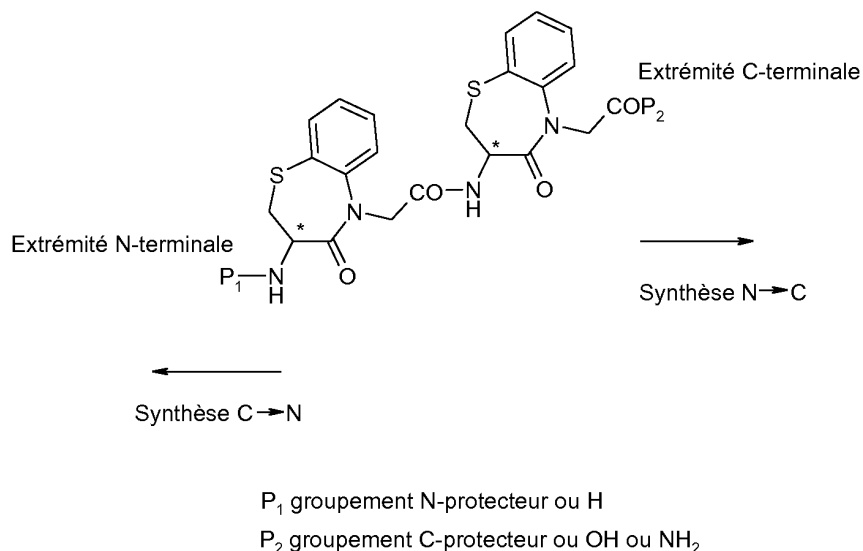
Avantageusement la synthèse de l'oligomère de formule (I) se fait en deux grandes étapes (α) et (β) : d'abord (α) par une polymérisation d'unités récurrentes avec ou non des groupements X_1 et/ou X_2 liés aux unités récurrentes N-terminale et/ou C-terminale, puis dans une deuxième étape (β) par liaison du principe actif sur l'oligomère obtenu. Dans les deux étapes, une sélection des fonctions chimiques réactives, telles certains hydroxyles, acides carboxyliques, amines, etc, sont protégées par des groupements protecteurs ou des techniques connues de l'homme du métier, qui peuvent être retrouvées dans : Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York, 2007 4^{ème} édition; Harrison et al. "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vol. 1 à 8 (J. Wiley & sons, 1971 à 1996); Paul Lloyd-Williams, Fernando Albericio, Ernest Giralt, "Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins", CRC Press, 1997 ou Houben-Weyl, "Methods of Organic Chemistry, Synthesis of Peptides and Peptidomimetics", Vol E 22a, Vol E 22b, Vol E 22c, Vol E 22d., M. Goodmann Ed., Georg Thieme Verlag, 2002.

10
15
20

Pour la première étape (α), de manière identique à la synthèse peptidique classique, un sens de synthèse peut être donné. Dans les structures données ci-dessus, une liaison amide peut être formée entre deux unités récurrentes pour former un oligomère, par l'utilisation d'un agent de couplage. Les unités récurrentes ayant chacune une extrémité COOH et une extrémité NH_2 protégées ou non, avant réaction, la partie restante non réactive (donc protégée) est référée comme extrémité C-terminale ou N-terminale respectivement. Ainsi un sens de synthèse peut être défini selon l'extrémité par lequel l'homme du métier souhaite agrandir l'oligomère : synthèses C \rightarrow N ou N \rightarrow C.

25
30

Exemple de structure pouvant être produite par le présent procédé :



Ensuite, un des groupements protecteurs P_1 ou P_2 est clivé par des techniques connues de l'homme du métier et une seconde réaction de couplage peut être effectuée. La polymérisation contrôlée des unités récurrentes est ainsi obtenue par des étapes successives de couplage-déprotection permettant d'obtenir un oligomère de taille voulue et de façon univoque. L'oligomère final peut être déprotégé *in fine* soit sélectivement sur la fonction carboxylique, soit sur la fonction aminée, soit totalement.

10 Ainsi dans le cas présent, dans l'étape (α), que ce soit en phase liquide ou en phase solide, la synthèse peut se faire dans le sens C→N ou N→C. Le sens de la synthèse peut être dicté par la molécule finale voulue ou par des facteurs de synthèse autres, tels que des risques d'épimérisation. Quelque soit le sens de la synthèse l'homme de l'art connaît les stratégies (il y en a plusieurs) pour incorporer le principe actif

15 (PA) aussi bien au niveau N-terminal sur X_1 qu'au niveau C-terminal sur X_2 . La molécule finale est totalement ou partiellement déprotégée selon les techniques connues de l'homme du métier.

Avantageusement, un oligomère (I) ou (I') est obtenu par un procédé de polymérisation en phase solide, selon une stratégie classique de synthèse

20 peptidique sur support: une résine portant une fonction aminée est condensée à un acide aminé protégé sur sa fonction amine, puis le fragment ainsi fixé sur la

résine est allongé depuis le côté C-terminal vers le côté N-terminal, avant d'être séparé de la résine.

Dans le procédé de polymérisation en phase solide, chaque étape de couplage d'un composé (XI) préalablement protégé sur sa fonction aminée (XI') comprend
 5 la réaction de couplage proprement dite en présence d'un agent de couplage, le lavage du produit obtenu après le couplage, puis la déprotection du groupe amino de l'unité -NR₁-R-A-R'-CO- fixée.

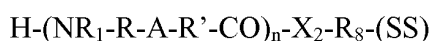
Avantageusement le procédé de préparation de l'oligomère de formule (I) se fait par les étapes successives suivantes:

- 10 a) polymérisation par une stratégie de synthèse peptidique sur support solide, comprenant la réaction de l'unité de mime contraint de dipeptides ou de tripeptides, avantageusement inducteur de coude béta, de formule (XI') suivante:



15 (XI')

dans lequel le groupement P est un groupement N-protecteur, l'unité récurrente -N-R₁-R-A-R'-CO- et les termes A, R, R' et R₁ sont tels que définis ci-dessus pour la formule (I') et les groupements A, R, R' et R₁ convenablement protégés par des groupements protecteurs, pour synthétiser
 20 le produit (XII) suivant:



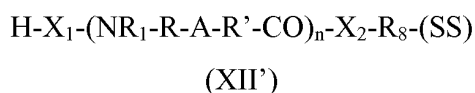
(XII)

dans lequel,

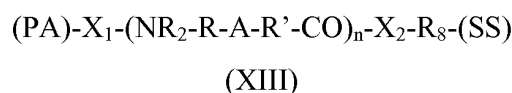
- n et X₂ sont tels que définis ci-dessus;
- 25 - R₈ est un groupe précurseur de R₇ avant clivage, R₇ est tel que défini ci-dessus;
- (SS) est le support solide ;

- a2) éventuellement, si X₁ n'est pas une liaison, réaction de couplage entre P-X₁-OH, dans lequel le groupement P est un groupement N-
 30 protecteur et X₁ est tel que défini ci-dessus, et l'amine N-terminale du

produit (XII), suivie d'une étape de déprotection de l'extrémité N-terminale pour synthétiser le produit (XII') suivant :



5 c) réaction de couplage entre un principe actif (PA) et l'amine N-terminale du produit (XII'), pour synthétiser le produit (XIII) suivant :



dans lequel,

10 (PA) est tel que défini ci-dessus,

d) une réaction de clivage permettant de libérer l'oligomère de formule (I) du support solide à partir du produit de formule (XIII).

15 Dans le cadre de la présente invention, les termes supports solides, résines supports ou résines sont équivalents.

Avantageusement, le procédé comprend une étape (a1) antérieure à l'étape (a) de couplage d'un groupe espaceur X₂ sur le support solide

20 Pour l'étape (a), on peut utiliser comme résine support toute résine utilisée de manière classique dans les synthèses peptidiques. A titre d'exemple, on peut citer une résine 4-méthylbenzhydrylamine (désignée ci-après par résine MBHA), ou une résine dite Merrifield, qui est un copolymère de styrène et de divinylbenzène fonctionnalisée par le chlorobenzyle. Les deux résines sont des résines commerciales distribuées notamment par les sociétés Novabiochem et
25 Bachem. On peut également citer les résines PAL-PEG-PS, qui sont des copolymères d'acide 5-(4-aminométhyl-3,5-diméthoxyphénoxy)valérique - polyéthylène glycol - polystyrène.

30 Des résines de type « Rink amide » (4-[2',4'-diméthoxyphényl-(9-fluorénylméthyl)oxycarbonyl]aminométhyl]phénoxy-aminométhyl polystyrène) et « Wang » (alcool 4-benzyloxy-benzyl polystyrène) peuvent également être utilisées comme support solide (SS).

Avantageusement les résines utilisées sont de type « Wang » ou « Rink Amide ».

L'agent de couplage peut être choisi parmi les agents de couplage classiquement utilisés en synthèse peptidique. On peut citer par exemple :

N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC), 1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl)-
5 carbodiimide hydrochlorure (EDC), O-(1H-benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-
tétraméthyluronium tétrafluoroborate (TBTU), benzotriazol-1-yl-
oxytris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate (BOP), O-(7-
azabenzotriazol-1-yl)-1,2,3-tétraméthyluronium hexafluorophosphate (HATU),
O-benzotriazol-1-yl-N,N,N',N'-tétraméthyluronium hexafluorophosphate
10 (HBTU), N-hydroxy- 5-norbornène-2,3-dicarbodiimide, ou tout autre agent de
couplage dans un solvant tel que l'éther, l'acétone, le chloroforme,
dichlorométhane, acétate d'éthyle, diméthylformamide (DMF), tétrahydrofurane
(THF), acétonitrile, diméthylsulfoxyde (DMSO), N-méthyl pyrrolidone (NMP),
refroidi ou à température ambiante, préférentiellement en présence d'un
15 catalyseur d'acylation tel que le N-hydroxybenzotriazole (HOBT), 1-hydroxy-7-
azabenzotriazole (HOAt), N-hydroxysuccinimide et leurs semblables.

On peut également utiliser pour le couplage, les anhydrides symétriques préformés à partir d'un monomère (XI') et du DCC.

Le lavage des produits obtenus après chaque phase de couplage peut être
20 effectué à l'aide des solvants utilisés classiquement dans les synthèses
peptidiques en phase solide.

A titre d'exemple, on peut citer le diméthylformamide (DMF), le méthanol et le
dichlorométhane (DCM).

Le réactif utilisé pour la déprotection du groupe aminé après une étape de
25 couplage dépend de l'agent de protection utilisé. Par exemple, si la protection est
effectuée par un groupe Boc, la déprotection est effectuée avantageusement à
l'aide d'une solution d'acide trifluoroacétique (TFA). Si la protection est effectuée
par un groupe Fmoc, la déprotection peut être effectuée par la pipéridine. De
manière générale, les groupes protecteurs et les réactifs de déprotection utilisés
30 de manière connue lors des synthèses peptidiques en phase solide peuvent être
utilisés lors de la synthèse des oligomères de la présente invention.

- L'oligomère peut avantageusement être séparé de la résine par traitement par un acide. A titre d'exemple, on peut citer l'acide trifluoroacétique en présence de tris-isopropylsilane et d'eau ou l'acide fluorhydrique en présence d'anisole, suivant le type de résine utilisée. Dans ces conditions, la protection du groupe
- 5 amino terminal avant séparation de la résine peut être effectuée par un groupe uréthane stable dans les conditions acide de clivage ou par un groupe acyle stable dans les mêmes conditions. Lorsque la séparation est effectuée par l'acide trifluoroacétique, le groupe amino est protégé par exemple par un groupe Fmoc ou Boc définis précédemment.
- 10 La préparation des oligomères en phase solide est réalisée de manière avantageuse dans un synthétiseur automatique utilisé de manière classique pour la synthèse des peptides sur support solide. Dans ce type d'appareil, la succession des différentes opérations de couplage, de lavage, de déprotection, est pilotée par un ordinateur.
- 15 Légendes des figures :
- La Figure 1 décrit l'internalisation des oligomères dans les cellules cancéreuses mammaires humaines de la lignée MDA-MB-231. La Figure 1A décrit l'intensité de la fluorescence émise par les oligomères marqués par de la fluorescéine. La Figure 1B décrit l'intensité de la fluorescence de JMV 3229 en fonction de la
- 20 température. La Figure 1C décrit l'intensité de la fluorescence en fonction de la concentration en oligomères. La Figure 1D décrit l'évolution de la fluorescence en fonction du temps (cinétique).

La présente invention est décrite plus en détail à l'aide des exemples suivants, qui

25 sont donnés à titre d'illustration et auxquels l'invention n'est pas limitée.

Exemple 1 : Oligomères synthétisés

Des oligomères de différentes tailles ont été synthétisés. Ces oligomères peuvent être de nature hydrophobe, hydrophile ou amphipatique en fonction des mimes

30 utilisés. Ils ont la capacité de traverser les membranes cellulaires et sont probablement internalisés par voie endosomale. Afin de suivre l'internalisation

des oligomères dans les cellules par microscopie à fluorescence, l'isothiocyanate de fluorescéine a été utilisé. La sonde fluorescente (fluorescéine) est introduite, soit directement sur l'extrémité N-terminale du poly-CM (CM= mime contraint) ancré à la résine (composés 1 à 3 et 7) soit sur la fonction amine d'un espaceur (composés 4-6 et 8-9). L'importance de la configuration a été évaluée par la préparation de dérivés de DBT (composés 1-6) et de LBT (composés 7-9).

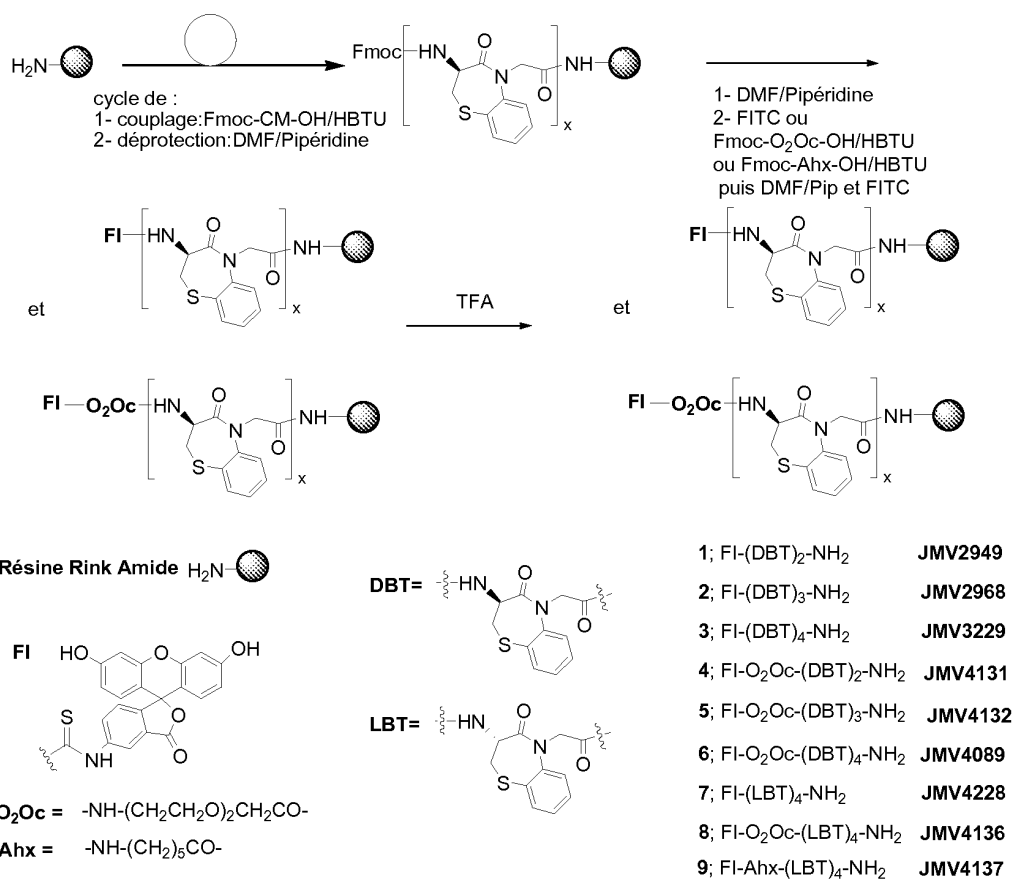


Schéma de synthèse 1 : Synthèse d'oligo-(DBT) et d'oligo-(LBT) marqués par la fluorescéine

10

Exemple 2 : Evaluation biologique En première intention, les oligomères portant la sonde fluorescente sont testés pour leur capacité à pénétrer dans les cellules (lignées MDA-MB-231 de cancer du sein). Typiquement, deux expériences sont réalisées :

mesure de la fluorescence totale par fluorimétrie après trypsinisation ménagée et lyse des cellules, et par microscopie confocale à fluorescence avec des marqueurs spécifiques des organites cellulaires.

Des tétra-oligomères de DBT sont capables de s'internaliser dans les cellules avec la même efficacité que l'octa-arginine (R8) décrite par le groupe de Wender (Standford, USA) et qui fait partie des CPP de référence décrits à ce jour dans la littérature. Des marqueurs spécifiques ont permis de démontrer que ces composés sont internalisés par voie endosomale et sont localisés à 16 heures dans des lysosomes. Cette localisation spécifique présente un intérêt certain pour cibler certaines pathologies : maladies lysosomales, maladie d'Alzheimer, certains cancers.

En premier lieu, la quantité absorbée et la fraction internalisée des oligomères ont été analysées (Figure 1A). Pour cette raison, des cellules de la lignée MDA-MB-231 de cancer du sein ont été incubées dans un milieu contenant 10^{-5} M de composés (1-6 du schéma 1) marqués par fluorescence, pendant 3 heures. L'octa-arginine marquée par de la fluorescéine a été utilisée en tant que contrôle positif, et de la carboxyfluorescéine en tant que contrôle négatif. Après incubation des oligomères de DBT, les cellules ont été lavées avec un tampon phosphate. Pour déterminer les fractions internalisées des composés, un traitement de 5 minutes à la trypsine a été réalisé afin d'éliminer les composés restés liés aux membranes cellulaires lors de la transduction. L'émission de fluorescence a été mesurée sur un lecteur pour microplaques.

Tel qu'il est montré sur la figure 1A, les quantités d'oligomères internalisés sont importantes et correspondent au moins à 40 % de la totalité des oligomères retenus sur les cellules. L'intensité de fluorescence la plus importante ayant été observée est pour le composé DBT₄ (JMV3229), l'intensité de fluorescence des oligomères DBT₃ (JMV2968) et DBT₂ (JMV2949) étant largement inférieure. Ces derniers présentent des capacités d'internalisation au moins 8 fois inférieures à celle des dérivés de DBT₄. L'absorption cellulaire apparaît dépendante de la longueur de l'oligomère avec une émission de fluorescence croissant avec la taille de l'oligomère. En outre les dérivés de DBT₄ sont aussi efficaces que l'octa-arginine malgré le fait que les DBT₄ ne sont pas chargés. Une meilleure efficacité du DBT₄ par rapport aux oligomères plus courts peut

être associée à une augmentation de l'hydrophobicité et/ou une structuration progressive de l'oligomère. Les composés JMV4137 et JMV4228 construits par polymérisation du monomère L-benzothiazépinone (LBT) sont aussi efficaces que leurs contreparties D, indiquant que la configuration du fragment DBT n'est pas importante. Ce résultat devrait exclure l'implication d'un mécanisme récepteur-dépendant pour l'internalisation cellulaire de DBT₄. L'introduction d'un espaceur à l'extrémité N-terminale des oligomères (composés JMV4089, JMV4136 et JMV 4137) n'induit pas de perturbation importante du système.

10 **Exemple 3 : Analyse du facteur température**

Une analyse de la dépendance de l'internalisation vis-à-vis de la température a été réalisée en incubant des cellules avec 10⁻⁵ M de JMV3229 à 4°C et 37°C (figure 1B). L'absorption cellulaire est diminuée par trois à basse température suggérant un passage endocytotique dépendant de l'énergie, plutôt qu'une pénétration passive de l'oligomère dans la cellule.

Exemple 4 : Analyse dose-réponse

Une analyse dose-réponse a été réalisée pour comparer l'absorption des oligomères de DBT vis-à-vis de l'octa-arginine R₈ (Figure 1C). La pénétration de tous les composés apparaît être dose-dépendante.

Exemple 5 : Etude cinétique

L'étude cinétique faite avec le DBT le plus efficace, le JMV 3229, (Figure 1D) montre que son entrée cellulaire est aussi rapide que celle de l'octa-arginine R₈, mais aucun plateau n'est observé à 3 heures. En contraste, l'internalisation de JMV3229 augmente jusqu'à 16 heures pour atteindre une concentration 11 fois supérieure à celle de l'octa-arginine R₈.

Exemple 6 : Analyse de la cytotoxicité

30 La cytotoxicité de cette nouvelle classe de molécules a été également déterminée dans des cellules de lignée MDA-MB-231 en utilisant un test diagnostique de viabilité

cellulaire, le MTT. Après une incubation de 5 jours, les composés aux concentrations utilisées pour les études d'internalisation, ne présentent aucun effet significatif sur la viabilité cellulaire, sauf pour le composé JMV4131 à 10^{-5} M. Ces résultats indiquent que les poly-DBT ne présentent pas de risque d'effets cytotoxiques propres ce qui est favorable pour leur utilisation en tant que vecteurs pour la délivrance de médicament.

Exemple 7 : analyse par CLSM

L'analyse par microscopie à scanner laser confocal (CLSM) a aussi été réalisée sur des cellules vivantes pour déterminer l'internalisation et la distribution intracellulaire. Cette expérience a été associée avec une étude cinétique de l'internalisation des oligomères de DBT.

La co-coloration avec un marqueur de membrane (marquage des radeaux lipidiques) a été réalisée pour vérifier que le composé JMV3229 hydrophobe n'a pas été emprisonné dans la membrane. Il a été observé par analyse CLSM et en accord avec les résultats de la Figure 1D que l'internalisation de ce composé dans les organites cellulaires augmentait jusqu'à 16 heures puis diminuait. De plus, les résultats montrent que le JMV3229 non-cationique a une internalisation comparable à celle de l'octa-arginine R₈ à 3 heures.

L'internalisation et la localisation des oligomères de LBT, JMV4137 et JMV4089 sont similaires à celles du composé JMV3229

Afin d'avoir un meilleur aperçu du mécanisme de translocation des oligomères DBT, des co-colorations ont été faites avec des marqueurs fluorescents divers pour des composants sub-cellulaires, tels que le noyau, la membrane plasmique et les lysosomes. Les résultats montrent que JMV3229 est localisé dans des vésicules non-marquées (endosomales) à 3 heures et devient essentiellement co-localisé avec un marqueur lysosomal après 16 heures.

Des résultats similaires ont été obtenus avec les oligomères JMV4089 et JMV4137.

L'effet de la température sur l'internalisation du composé JMV3229 a été déterminé. A 4°C la majorité du composé JMV3229 est co-localisé avec le marqueur de membranes plutôt qu'internalisé. Ceci confirme les résultats présentés dans la figure 1B et suggère un mécanisme d'internalisation énergie-dépendante.

En conclusion, ces résultats indiquent le potentiel de ces oligomères dans le ciblage du compartiment endolysosomal. Bien que l'adressage lysosomal présente l'inconvénient d'une possible dégradation du principe actif par les enzymes lysosomales, des études récentes démontrent une utilité clinique intéressante à cibler une thérapie vers ce

5 compartiment. En conclusion l'efficacité prouvée de la pénétration cellulaire des oligomères courts de D- ou L-BT, offre une nouvelle classe de vecteurs possédant la particularité d'être des transporteurs non-cationiques.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'un oligomère de formule I' :



5

(I')

dans laquelle :

- les unités récurrentes $-(NR_1-R-A-R'-CO)-$, indépendamment identiques ou différentes les unes des autres, représentent des mimes contraints de dipeptides ou de tripeptides ;
- 10 - n est un nombre entier compris entre 2 et 40 ;
- R et R', l'un indépendamment de l'autre, représentent une liaison ou un groupe C₁-C₆ alkyle éventuellement substitué par un groupe aryle ou par une chaîne latérale d'un acide aminé ;
- A représente un cycle hydrocarboné ou un hétérocycle, monocyclique ou polycyclique, saturé ou insaturé, comprenant un ou des cycles de 3 à 10
15 atomes chacun et un nombre total de cycles ne dépassant pas 3, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements choisis dans le groupe constitué de C₁-C₆ alkyle, oxo (=O), nitrile, -C(=NH)NH₂, -NH-C(=NH)NH₂, -(CH₂)_uOH, -CO₂H, -CONH₂, F, CF₃, -(CH₂)_vNH₂, et/ou -
20 CONH(CH₂)_wNH₂, u, v et w étant des nombres entiers compris entre 0 et 10.
- R₁ représente un atome d'hydrogène ou bien R₁ forme un cycle avec l'atome d'azote auquel il est lié, ledit cycle étant soit condensé avec le groupe A, soit lié au groupe A par une liaison alkyle en C₁-C₆ soit lié à A
25 par une jonction spiro ;
- X₁ et X₂, indépendamment l'un de l'autre, représentent un groupe espaceur ou une liaison ;
pour préparer un principe actif (PA) vectorisé de formule (I) en liant (PA) à X₁ et/ou X₂ afin de faciliter l'entrée dudit principe actif dans des cellules
30 biologiques.

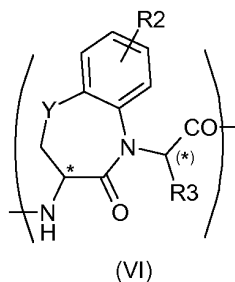
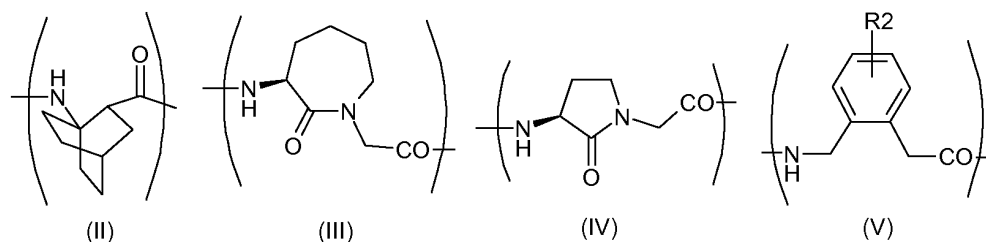
2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le principe actif est choisi dans le groupe des médicaments traitant les maladies lysosomales, par exemple la maladie de Gaucher, de Fabry ou de Pompe, le cancer, la maladie d'Alzheimer.

5

3. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que n est compris entre 4 et 8.

4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que les unités récurrentes $-(NR_1-R-A-R'-CO)-$ sont choisies parmi les groupes suivants :

10

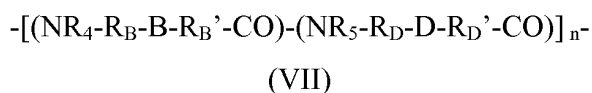


R2= H
F
(C₁₋₆)-alkyle
OH
CN
C(=NH)NH₂
NH-C(=NH)NH₂
CF₃
CONH₂
(CH₂)_u-OH
(CH₂)_v-NH₂
CO₂H
CO-NH-(CH₂)_w-NH₂

R3 = chaîne latérale d'acides aminés
Y = O
NH
S
CH₂

5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'il s'agit d'un hétéroooligomère où $-(NR_1-R-A-R'-CO)_n-$ présente la formule (VII) :

15

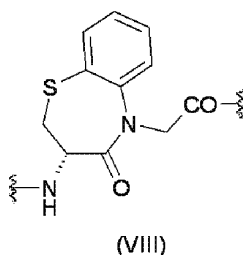


dans lequel :

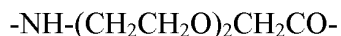
- les unités récurrentes $-(NR_4-R_B-B-R_B'-CO)-$ et $-(NR_5-R_D-D-R_D'-CO)-$,
représentent des mimes contraints de dipeptides ou de tripeptides ;
- les unités récurrentes $-(NR_4-R_B-B-R_B'-CO)-$ et $-(NR_5-R_D-D-R_D'-CO)-$
5 sont différentes l'une de l'autre ;
 - R_B , R_D , R_B' et R_D' , les uns indépendamment des autres, représentent une liaison ou un groupe C_1-C_6 alkyle éventuellement substitué par un groupe aryle ou par une chaîne latérale d'un acide aminé ;
 - B représente un cycle hydrocarboné ou un hétérocycle, monocyclique ou
10 polycyclique, saturé ou insaturé, comprenant un ou des cycles de 3 à 10 atomes chacun et un nombre total de cycles ne dépassant pas 3, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements choisis dans le groupe constitué de C_1-C_6 alkyle, oxo (=O), nitrile, $-C(=NH)NH_2$, $-NH-C(=NH)NH_2$, $-(CH_2)_uOH$, $-CO_2H$, $-CONH_2$, F, CF_3 , $-(CH_2)_vNH_2$, et/ou $-CONH(CH_2)_wNH_2$, u, v et w étant
15 des nombres entiers compris entre 0 et 10 ;
 - D représente un cycle hydrocarboné ou un hétérocycle, monocyclique ou polycyclique, saturé ou insaturé, comprenant un ou des cycles de 3 à 10 atomes chacun et un nombre total de cycles ne dépassant pas 3, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements choisis dans le groupe constitué de
20 C_1-C_6 alkyle, oxo (=O), nitrile, $-C(=NH)NH_2$, $-NH-C(=NH)NH_2$, $-(CH_2)_uOH$, $-CO_2H$, $-CONH_2$, F, CF_3 , $-(CH_2)_vNH_2$, et/ou $-CONH(CH_2)_wNH_2$, u, v et w étant des nombres entiers compris entre 0 et 10 ;
 - R_4 représente un atome d'hydrogène ou bien R_4 forme un cycle avec l'atome d'azote auquel il est lié, ledit cycle étant soit condensé avec le groupe
25 B, soit lié au groupe B par une liaison alkyle en C_1-C_6 , soit lié à B par une jonction spiro ;
 - R_5 indépendamment de R_4 , représente un atome d'hydrogène ou bien R_5 forme un cycle avec l'atome d'azote auquel il est lié, ledit cycle étant soit condensé avec le groupe D, soit lié au groupe D par une liaison alkyle en C_1-C_6
30 soit lié à D par une jonction spiro.

6. Utilisation selon la revendication 5, caractérisée en ce que les deux unités –
(NR₄-R_B-B-R_B'-CO)- et –(NR₅-R_D-D-R_D'-CO)- sont des unités de formule
(VI) différentes l'une de l'autre.

5 7. Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que l'un desdits
dérivés de formule (VI) est un composé de formule (VIII) :



8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes,
10 caractérisée en ce que les groupes espaceurs X₁ et X₂, indépendamment l'un
de l'autre sont une liaison ou choisis parmi les groupes suivants:



(IX)



(X)

15 9. Oligomère représenté par la formule générale (I):



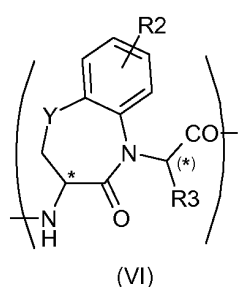
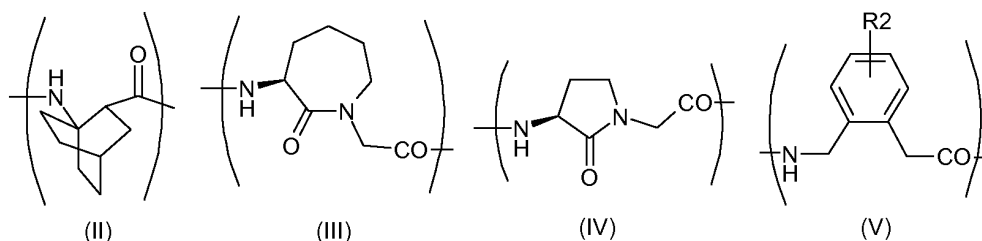
(I)

dans laquelle :

- 20 - l'un au moins de R₆ et R₇, est un principe actif (PA) ; dans le cas où R₆ est
un principe actif, R₇ est choisi parmi les groupes hydroxy, C₁-C₆ alcoxy,
aryl-(C₁-C₆ alcoxy)-, ou NH₂ ou R₇ représente un principe actif identique ou
différent de R₆ ; dans le cas où R₇ est un principe actif, R₆ est choisi parmi
un atome d'hydrogène, un groupe C₁-C₆ alkyle, un groupe aryl-(C₁-C₆
alkyl)-, ou R₆ est un principe actif identique ou différent de R₇ ;
- 25 - les unités récurrentes –(NR₁-R-A-R'-CO)-, indépendamment identiques ou
différentes les unes des autres, représentent des mimes contraints de
dipeptides ou tripeptides ;

- n est un nombre entier compris entre 2 et 40 ;
 - R et R', l'un indépendamment de l'autre, représentent une liaison ou un groupe C₁-C₆ alkyle éventuellement substitué par un groupe aryle ou par une chaîne latérale d'un acide aminé ;
 - 5 - A représente un cycle hydrocarboné ou un hétérocycle, monocyclique ou polycyclique, saturé ou insaturé, comprenant un ou des cycles de 3 à 10 atomes chacun et un nombre total de cycles ne dépassant pas 3, éventuellement substitué par un ou plusieurs groupements choisis dans le groupe constitué de C₁-C₆ alkyle, oxo (=O), nitrile, -C(=NH)NH₂, -NH-
 - 10 C(=NH)NH₂, -(CH₂)_uOH, -CO₂H, -CONH₂, F, CF₃, -(CH₂)_vNH₂, et/ou -CONH(CH₂)_wNH₂, u, v et w étant des nombres entiers compris entre 0 et 10.
 - R₁ représente un atome d'hydrogène ou bien R₁ forme un cycle avec l'atome d'azote auquel il est lié, ledit cycle étant soit condensé avec le
 - 15 groupe A, soit lié au groupe A par une liaison alkyle en C₁-C₆ soit lié à A par une jonction spiro ;
 - X₁ et X₂, indépendamment l'un de l'autre, représentent un groupe espaceur ou une liaison.
- 20 10. Oligomère selon la revendication 9, caractérisé en ce que les principes actifs sont choisis dans le groupe des médicaments, des siRNA, des miRNA, ou des peptides.
11. Oligomère selon la revendication 10, caractérisé en ce que les médicaments
- 25 sont choisis dans le groupe des médicaments pour le traitement de maladies lysosomales, du cancer ou de la maladie d'Alzheimer.
12. Oligomère selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, caractérisé en ce que n est compris entre 4 et 8.

13. Oligomère selon l'une quelconque des revendications 9 à 12, caractérisé en ce que les unités récurrentes sont choisies parmi les groupes suivants :

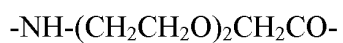


R2= H
F
(C₁₋₆)-alkyle
OH
CN
C(=NH)NH₂
NH-C(=NH)NH₂
CF₃
CONH₂
(CH₂)_u-OH
(CH₂)_v-NH₂
CO₂H
CO-NH-(CH₂)_w-NH₂

R3 = chaîne latérale d'acides aminés

Y = O
NH
S
CH₂

5 14. Oligomère selon l'une quelconque des revendications 9 à 13, caractérisé en ce que les groupes espaceurs X₁ et X₂ indépendamment l'un de l'autre sont une liaison ou choisis parmi les groupes suivants :



(IX)



(X)

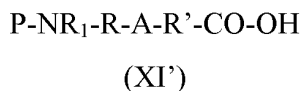
10

15. Oligomère selon l'une quelconque des revendications 9 à 14 en tant que médicament.

15 16. Oligomère selon l'une quelconque des revendications 9 à 14 pour faciliter l'entrée d'un principe actif (PA) dans des cellules biologiques.

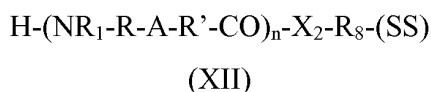
17. Procédé de préparation d'un oligomère selon l'une quelconque des revendications 9 à 14, caractérisé par les étapes successives suivantes :

a) polymérisation par une stratégie de synthèse peptidique sur support solide, comprenant la réaction de l'unité de mime contraint de dipeptides ou tripeptides de formule (XI') suivante :



5

dans lesquels le groupement P est un groupement N-protecteur, l'unité récurrente -NR₁-R-A-R'-CO-, et les termes A, R, R', et R₁ sont tels que défini dans la revendication 9, pour synthétiser le produit (XII) suivant :



10

dans lequel,

- n et X₂ sont tels que définis dans la revendication 9 ;

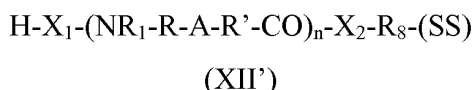
- R₈ est un groupe précurseur de R₇ avant clivage, R₇ est tel que défini dans la revendication 9 ;

15

- (SS) est le support solide ;

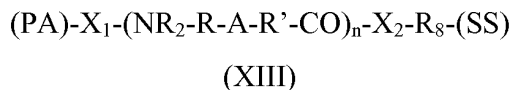
a2) éventuellement, si X₁ n'est pas une liaison, réaction de couplage entre P-X₁-OH, dans lequel le groupement P est un groupement N-protecteur et X₁ est tel que défini dans la revendication 9, et l'amine N-terminale du produit (XII), suivie d'une étape de déprotection de l'extrémité N-terminale pour synthétiser le produit (XII') suivant :

20



b) réaction de couplage entre un principe actif (PA) et l'amine N-terminale du produit (XII'), pour synthétiser le produit (XIII) suivant :

25



dans lequel,

(PA) est tel que défini dans la revendication 9,

c) une réaction de clivage permettant de libérer l'oligomère de formule (I) du support solide à partir du produit de formule (XIII).

30

18. Procédé selon la revendication 17, caractérisé par une étape (a1) antérieure à l'étape (a) de couplage d'un groupe espaceur X_2 sur le support solide.

1/1

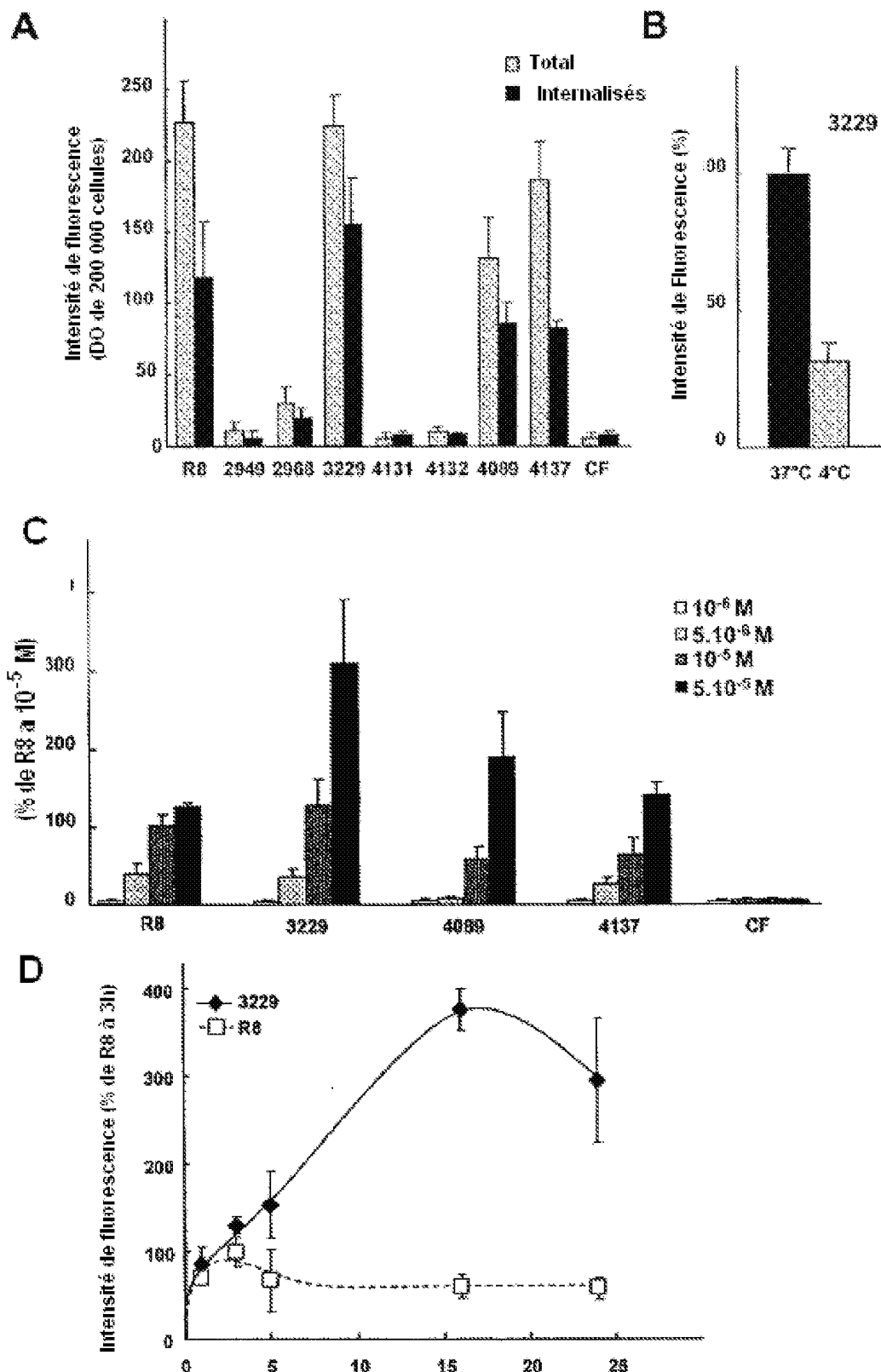


Fig. 1



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement national

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

FA 728455
FR 0955427

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	US 2003/191049 A1 (AMBLARD MURIEL [FR] ET AL) 9 octobre 2003 (2003-10-09) * alinéas [0053], [0056] - [0058]; exemples 5-8 *	9-18	A61K47/48 A61K47/22 A61K38/02 A61K31/7105 C07K2/00 C07H21/02 A61P25/28 A61P35/00 A61P25/00
A	----- BALLET STEVEN ET AL: "Blood-brain barrier penetration by two dermorphin tetrapeptide analogues: role of lipophilicity vs structural flexibility." JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY 24 APR 2008, vol. 51, no. 8, 24 avril 2008 (2008-04-24), pages 2571-2574, XP002566595 ISSN: 0022-2623 * composé 1 *	1	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K
A	----- HEITZ FREDERIC ET AL: "Twenty years of cell-penetrating peptides: from molecular mechanisms to therapeutics." BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY MAY 2009, vol. 157, no. 2, 20 mars 2009 (2009-03-20), pages 195-206, XP8118202 ISSN: 1476-5381	1	
A	----- FARRERA-SINFREU JOSEP ET AL: "Cell-penetrating proline-rich peptidomimetics." METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY (CLIFTON, N.J.) 2007, vol. 386, 2007, pages 241-267, XP8118206 ISSN: 1064-3745 ----- -/--	1	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
4 février 2010		Schleifenbaum, A	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>			

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0955427 FA 728455**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 04-02-2010
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2003191049 A1	09-10-2003	AT 307826 T	15-11-2005
		AU 3188101 A	24-07-2001
		DE 60114363 D1	01-12-2005
		EP 1246837 A2	09-10-2002
		FR 2803594 A1	13-07-2001
		WO 0151506 A2	19-07-2001
		JP 2003519629 T	24-06-2003
